АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXII. ВЫП. 5

СЕНТЯБРЬ—ОКТЯБРЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1953

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
2 OV 1953

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров,
В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ» ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2 КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14. Издательство Академии наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

К ВОПРОСУ О ЗНАЧЕНИИ УГЛЕКИСЛОТЫ ДЛЯ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ

1. О ВОЗМОЖНОСТИ ЗАМЕНЫ УГЛЕКИСЛОТЫ ОРГАНИЧЕСКИМИ КИСЛОТАМИ

С. А. Баринова

За последнее время вопросу о значении углекислоты для жизнедеятельности гетеротрофных организмов посвящено много работ, однако, по нашему мнению, до сих пор этот вопрос остается не выясненным.

Углекислота, по сравнению с другими слабыми кислотами, проникает в клетку с исключительной быстротой. Способность углекислоты быстро проникать в клетку обычно связывают с ее слабокислым характером, с малой степенью диссоциации. Однако более вероятно, что в этом явлении имеет основное значение летучесть углекислоты, ее принадлежность к газам, для которых клеточная оболочка вообще очень проницаема [11].

Углекислота влияет на различные физиологические процессы, протекающие в живой клетке; она изменяет реакцию, как внешней среды, так и внутри клетки, оказывает влияние на проницаемость клетки, на окислительно-восстановительные реакции, происходящие в ней и, вероятно, на другие процессы нам пока еще не известные [2, 9, 13, 15, 22]. По мнению физиологов растений Сабинина [12], Ратнера [10], Колосова [5] и др. углекислота, или вернее, ионы H^+ и HCO_3^-, возникающие при дыхании, обеспечивают поступления других анионов и катионов из наружного раствора в клетку, путем обменной адсорбции их на ионы H^+ и HCO_3^-. Однако после появления работ Веркмана и Вуда (Werkman a. Wood [26]) (хотя о гетеротрофной ассимиляции углекислоты писал Лебедев [6] еще в двадцатых годах) благоприятное влияние углекислоты на рост и обмен веществ гетеротрофных организмов стали относить за счет участия углекислоты в образовании четырехуглеродных двухосновных кислот и совершенно не принимать во внимание иные пути воздействия углекислоты на организм. А. Ф. Лебедев в 1921 г. [6] впервые указал на возможность усвоения углекислоты гетеротрофными организмами. Он писал, что после открытия Виноградским хемосинтеза физиология неизбежно должна была поставить на очередь вопрос: не наблюдаются ли, по крайней мере, у некоторых, так называемых гетеротрофов случаи хемосинтеза, осуществляемые за счет химической энергии, образующейся в процессе дыхания или брожения. Далее Лебедев, применяя принцип Гульдберг и Вааге, к опытам по выращиванию Aspergillus niger на сахарозе, манните, глицерине, альдегидах и органических кислотах в присутствии углекислоты, пришел к выводу, что углерод ассимилируется организмом из соединений, содержащих в себе карбонильную группу (C = O), таковы угольная кислота ($C\langle^{OH}_{OH}{=}O$), альдегиды ($R-C\langle^{H}_{=}O$) и вообще органические кислоты ($R-C\langle^{=O}_{OH}$). Те соединения, которые не имеют этой группы (углеводы, спирты и т. п.) лишены питательного значения и служат лишь энергетическим материалом (дыхание и брожение). Эти соединения лишь косвенно могут являться питательными веществами, поскольку при дыхании или брожении выделяется CO_2 или вещества с карбонильной функцией. Для организма, которому приходится строить вещества сложной конструкции, такой процесс с энергетической точки зрения не выгоден.

По этому вопросу В. О. Таусон [14] писал, чтобы восстановить карбоксильную группу угольной или органической кислоты в альдегидную потребуется окисление одной альдегидной группы, например, триозы, в карбоксильную, поэтому трудно понять смысл такой реакции, которая сопровождалась бы некоторой потерей энергии. К аналогичному заключению пришел Очао [8]. Трудно судить о том, является ли ассимиляция CO_2 существенной или даже необходимой для гетеротрофных организмов и животных клеток, так как при этом процессе не происходит увеличение количества органического вещества.

Вуд и Веркман [26] впервые установили, что пропионовые бактерии на средах с глицерином, маннитом, адонитом, эритритом и рамнозой потребляют углекислоту. На глюкозе, арабинозе, галактозе, ксилозе, глицериновом альдегиде, дегидроацетоне, а также на молочной и пировиноградной кислотах эти бактерии выделяют углекислоту.

Потребление углекислоты пропионовыми бактериями на средах с глицерином сопровождается образованием эквимолекулярного количества янтарной кислоты. На основании соотношения между количеством потребленной углекислоты и образовавшейся янтарной кислоты Вуд и Веркман высказали предположение, что янтарная кислота образуется путем соединения углекислоты с пировиноградной кислотой, хотя при балансовых подсчетах увеличения связанного углерода за счет углекислоты в опытах не было, а потребление углекислоты обнаруживалось только при подсчете окислительно-восстановительного баланса.

По мнению Кребса и Эгглестона (Krebs a. Eggleston [24]), указанное соотношение между потребленной углекислотой и образовавшейся янтарной кислотой можно объяснить, предположив, что янтарная кислота образуется из уксусной кислоты, а углекислота играет роль акцептора водорода (Фостер, Foster [19]).

Первичная реакция фиксации углекислоты может рассматриваться как обращение декарбоксилирования, и, согласно гипотезе Крампитц, Вуда и Веркмана (Krempitz, Wood a. Werkman [23]), может катализироваться энзимом декарбоксилазного типа, действующего «обратно». При нормальных условиях декарбоксилирование щавелевоуксусной кислоты этим энзимом происходит фактически полностью (Герберт, Gerbert [21]). Тем не менее, Крампитц, Вуд и Веркман [23] предположили, что декарбоксилаза щавелевоуксусной кислоты может вызывать фиксацию CO_2, катализируя обратимую реакцию. Это предположение кажется мало вероятным на основании термодинамики, так как изменение свободной энергии реакции, равное 5250 кал., благоприятствует декарбоксилированию, а не наоборот. Если эту реакцию связать с высоко экзоэргонической реакцией, превращающей оксалацетат в другое вещество, то тогда, по крайней мере, в теории обратимое декарбоксилирование, т. е. фиксация CO_2, будет термодинамически возможна. В связи с этим Очао (Ochoa [25] предположил, что реакция может происходить путем восстановления щавелевоуксусной кислоты в яблочную кислоту дегидрогеназой яблочной кислоты и восстановленным дифосфопиридин-нуклеотидом. Щавелевоуксусная кислота + ДПН (восст.) $\rightleftarrows$ яблочная кислота + ДПН (окисл.), но положение равновесия и этой реакции сильно сдвинуто в сторону окислительного декарбоксилирования яблочной кислоты.

Помимо использования меченых атомов [1, 4], доказать наличие фиксации углекислоты пытались путем замены ее органическими кислотами, образующимися, по мнению некоторых исследователей, при этом процессе.

Если действительно стимулирующее действие углекислоты на рост микроорганизмов обусловлено участием ее в образовании четырехуглеродных двухосновных и шестиуглеродных трехосновных кислот, и в случае отсутствия углекислоты торможение роста микроорганизмов происходит благодаря недостатку в этих веществах, то очевидно, что при внесении указанных кислот в питательную среду, процесс фиксации углекислоты будет подавлен, и не будет наблюдаться ни стимулирования роста в присутствии углекислоты, ни торможения роста в отсутствие ее. Известно, что добавление в питательную среду связанного азота тормозит фиксацию молекулярного азота разными видами азотобактера и Clostridium Pasteurianum. Эджл и Веркман (Ajl a. Werkman [16, 17, 18]) считают, что им удалось доказать возможность замены углекислоты в культурах Escherichia coli и Aerobacter aerogenes аргинином, пролином, аспарагиновой, глютаминовой, янтарной, фумаровой, яблочной, щавелевоуксусной, α-кетоглутаровой и цисаконитовой кислотами, и в случае Aerobacter aerogenes и лимонной кислотой, как в аэробных, так и в анаэробных условиях.

С выводами указанных авторов нельзя согласиться, так как в большинстве опытов они неправильно сопоставляют рост бактерий на средах с тем или иным заменителем углекислоты с ростом на средах, не содержащих таковых, т. е. устанавливают влияние этих веществ на рост исследуемых организмов, а не замену ими углекислоты (Эджл и Веркман [16] кривые *1*, *2*, *3* и табл. 5, 6; [17] табл. 1, 3 и 4; [18]). В то время как в правильно сравниваемых опытах замена углекислоты изучаемыми веществами не имеет места [18] табл. 9, [17] табл. 2.

В опытах Гиттермана и Кнайта (Gitterman a. Knight [20]) с Penicillium chrysogenum щавелевоуксусная, яблочная, фумаровая, янтарная, α-кетоглутаровая, изолимонная и лимонная кислоты не заменяли углекислоты. После того как нами было обнаружено [3] стимулирование роста плесневых грибов углекислотой воздуха, мы приступили к выяснению причины этого действия.

В настоящей работе мы пытались определить действительно ли стимулирующее действие углекислоты на рост грибов обусловлено участием ее в образовании четырехуглеродных двухосновных и шестиуглеродных трехосновных кислот, как это признается теперь многими нашими и зарубежными исследователями.

Методика [1]

Опыты проводились с погруженными культурами Aspergillus niger, Aspergillus flavus и Rhizopus nigricans на качалке, вращающейся со ско-

[1] Методику см. в нашей предыдущей работе [3].

ростью 120—150 об./мин. Воздух протягивался над питательной жидкостью со скоростью 9 л в час. Опыты проводились при 30—32° в течение 12—48 час. с 4 параллельными колбами. В колбы емкостью 250 мл наливалось 40 мл питательного раствора.

Asp. niger выращивался на питательной среде № 1, состоящей из: NH_4NO_3 0,3%; KH_2PO_1 0,066%; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,033%; $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0,003%; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,004%; $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,003%; глюкозы и органических кислот.

Rhizopus nigricans выращивался на среде № 2, в состав которой входит: $(NH_4)_2SO_4$ 0,3%, а остальное, как в среде № 1.

Для выращивания Asp. flavus применялась среда № 3 (Таусон [14]) (состоящая из: $Ca(NO_3)_2$ 0,1%; KNO_3 0,025%; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,025%; $Fe_2(SO_4)_3$ 0,001%; глюкозы 0,75%; 2 мМ органических кислот и $KH_2PO_4 + K_2HPO_4$ по 0,025% (фосфорные соли стерилизовались отдельно).

Питательные среды после внесения органических кислот нейтрализовались едким натрием до pH = 3,5—5,0. Грибы высушивались при 80° до постоянного веса. Глюкоза определялась по Бертрану. Янтарная кислота экстрагировалась эфиром из подкисленного раствора серной кислотой в аппарате Сокслета. После удаления эфира твердый остаток растворялся в воде и титровался 0,1 *N* щелочью с фенолфталеином. Лимонная кислота определялась по Гартману и Гиллигу (см. Омелянский [7]).

Влияние углекислоты воздуха на рост Aspergillus niger на средах с органическими кислотами

В первой серии опытов вместо глюкозы в питательную среду № 1 вносилось по 8 мМ янтарной, яблочной или лимонной кислот. Набухание конидий на этих средах в культурах, снабжаемых обычным воздухом, содержащим углекислоту, начинается приблизительно через 14 часов и прорастание через 15—16 часов после посева, в то время как в культурах, продуваемых воздухом, лишенным углекислоты, конидии начинают набухать через 20 часов и прорастать через 21—22 часа после посева. Следовательно, несмотря на то, что в данной серии опытов единственными источниками углерода являлись органические кислоты, при наличии которых, очевидно, реакция Вуда и Веркмана не могла происходить, углекислота, находящаяся в воздухе стимулировала первые стадии роста гриба, а именно, набухание и прорастание конидий, как и при выращивании грибов на сахарах [3], при этом степень стимулирования приблизительно равна 6 час. В результате стимулирующего действия углекислоты урожай Asp. niger за 48 часов опыта, как видно из табл. 1, в культурах, продуваемых воздухом, содержащим углекислоту, был на янтарной кислоте на 64%, на яблочной кислоте на 223% и на лимонной кислоте на 740% больше, чем урожай грибов в культурах, снабжаемых воздухом, лишенным углекислоты (табл. 1).

Ввиду плохого роста Asp. niger на одних кислотах, во 2-й серии опытов, помимо янтарной, яблочной, аспарагиновой или лимонной кислот в питательную среду добавлялось 40 мг глюкозы на колбу. Добавление небольшого количества глюкозы значительно ускоряло рост гриба. На этих средах, так же как и на среде, описанной выше, было отчетливо видно стимулирование углекислотой воздуха набухания и прорастания конидий — оно приблизительно равнялось 4—5 часам. Указанное стимулирование выявляется и при сопоставлении веса мицелия, полученного в культурах, снабжаемых обычным воздухом, содержащим углекислоту, с весом культур, выращиваемых при продувании воздуха, лишенного углекислоты (табл. 1).

В 3-й серии опытов Asp. niger выращивался на среде № 1, содержащей

Таблица 1

Влияние углекислоты воздуха на рост Aspergillus niger на средах с янтарной, яблочной, аспарагиновой и лимонной кислотами

Продолжительность опыта в часах	Питательная среда № 1		pH в начале опыта	Продуваемый воздух									Отношение веса гриба без CO_2 к весу с CO_2 (вес гриба без CO_2 принят за 100)
				без CO_2					с CO_2				
						Потреблено					Потреблено		
	глюкозы на колбу в мг	кислоты на колбу в мг		pH после опыта	Вес гриба в мг	глюкозы в мг	кислоты в мг	Экономический коэффициент	pH после опыта	Вес гриба в мг	глюкозы в мг	кислоты в мг	Экономический коэффициент	
48	0	Янтарная 944,0	3,5	3,5	5,9	0	не определялось		3,6	9,7	0	не определялось		100 : 164,4
40	0	Яблочная 1072,0	3,8	3,8	2,1	0	„	„	3,8	6,8	0	„	„	100 : 323,8
46	0	Лимонная 1680,0	3,6	3,6	1,0	0	„	„	3,6	8,4	0	„	„	100 : 840,0
23	40	Янтарная 944,0	4,0	3,9	8,7	11,2	105,0	16,7	3,9	16,2	22,3	93,8	39,1	100 : 186,2
23	40	Яблочная 1072,0	3,6	3,6	9,4	17,1	не определялось		3,8	18,8	34,3	не определялось		100 : 200,0
24	40	Аспарагиновая 1064,0 . . .	4,2	4,2	11,7	11,4	„	„	4,2	20,4	20,8	„	„	100 : 174,3
24	40	Лимонная 1680,0	3,6	3,6	6,4	8,8	„	„	3,6	20,7	35,9	„	„	100 : 391,8
24	800	Янтарная 94,4	4,9	4,5	21,4	57,5	39,6	22,0	4,0	67,8	163,5	28,8	35,2	100 : 316,8
24	800	Яблочная 107,2	4,5	4,2	37,6	100,0	не определялось		2,8	125,5	252,0	не определялось		100 : 333,7
23	800	Аспарагиновая 106,4	3,5	3,5	10,1	40,9	„	„	3,3	34,7	76,0	„	„	100 : 343,5
22	800	Лимонная 168,0	4,9	4,3	12,4	46,0	28,1	16,7	4,1	70,3	150,5	27,2	39,1	100 : 566,9

на колбу 800 мг глюкозы и 0,8 мМ янтарной, яблочной, аспарагиновой или лимонной кислот. Конидии Asp. niger при снабжении обычным воздухом начинают набухать на всех средах независимо от внесенной кислоты приблизительно через 5 часов и прорастать через 6—7 часов после посева. Несмотря на присутствие в питательной среде органических кислот, в культурах снабжаемых воздухом, лишенным углекислоты, набухание и прорастание конидий начинается значительно позднее, а именно, набухание приблизительно через 9 часов и прорастание через 10—11 часов после посева. Следовательно, так же как и в опытах с одной глюкозой [3], вызываемое углекислотой ускорение набухания и прорастания приблизительно равняется 4 часам. Что касается влияния углекислоты на дальнейшее развитие, то урожай гриба в культурах с углекислотой на средах с янтарной, яблочной и аспарагиновой кислотами на 210—240%, а с лимонной кислотой на 460% выше, чем урожай в культурах без углекислоты (табл. 1).

Кроме веса мицелия, определялось потребление глюкозы, янтарной и лимонной кислот. Грибы, выращиваемые на средах с малым содержанием глюкозы, потребляют янтарную и лимонную кислоты в значительно большем количестве, чем их собственный вес. На средах, содержащих относительно большое количество глюкозы, грибы потребляют при снабжении их обычным воздухом янтарной и лимонной кислот около 40% от их веса, а при снабжении воздухом без углекислоты в два раза больше, чем их вес. Следовательно, янтарная и лимонная кислоты потреблялись в таком количестве, что, несомненно, все потребности гриба в C_4 и C_6 были полностью удовлетворены. Что касается степени использования глюкозы и органических кислот, т. е. экономических коэффициентов, представляющих собой отношение веса гриба к потребленным глюкозе и органическим кислотам, выраженных в процентах, то они выше в культурах, снабжаемых углекислотой воздуха, чем в культурах, выращиваемых без углекислоты (табл. 1). Причины данного явления были рассмотрены ранее [3].

Из всего вышесказанного совершенно очевидно, что янтарная, яблочная, аспарагиновая и лимонная кислоты не заменяют углекислоты, и далее следует, что ускорение роста грибов под влиянием углекислоты не обусловлено участием ее в синтезе четырехуглеродных двухосновных и шестиуглеродных трехосновных кислот, иначе стимулирование роста углекислотой не имело бы места при внесении в питательную среду указанных органических кислот.

Влияние углекислоты воздуха на рост Aspergillus flavus на глюкозе с янтарной, яблочной, аспарагиновой и лимонной кислотами

Aspergillus flavus выращивался на питательной среде № 3, в которую одновременно с 300 мг глюкозы вносились янтарная, яблочная, аспарагиновая или лимонная кислоты по 0,8 мМ в каждую колбу. Конидии Asp. flavus при продувании воздуха, содержащего углекислоту, на всех применяемых кислотах начинают набухать спустя 6 часов и прорастать через 7—8 часов после посева, в то время как в культурах, снабжаемых воздухом, лишенным углекислоты, набухание конидий начинается приблизительно через 20—21 час и прорастание через 22—23 часа после посева. Еще яснее выявляется благоприятное действие углекислоты на рост Asp. flavus при сравнении урожаев, приведенных в табл. 2. Так, урожай грибов, культивируемых в присутствии обычного воздуха с углекислотой, был выше на янтарной кислоте на 660%, на яблочной кислоте на 800%, на аспарагиновой кислоте на 1420% и на лимонной кислоте на 8460%, чем в культурах, снабжаемых воздухом, лишенным углекислоты.

Полученные результаты с Asp. flavus позволяют сделать выводы, подобные вышеприведенным с Asp. niger: янтарная, яблочная, аспарагиновая и лимонная кислоты не заменяют углекислоты, так как, несмотря на

Таблица 2

Влияние углекислоты воздуха на рост Aspergillus flavus на средах с янтарной, яблочной, аспарагиновой и лимонной кислотами

Продолжительность опыта в часах	Питательная среда № 3		pH в начале опыта	Продуваемый воздух				Отношение веса гриба без CO_2 к весу с CO_2 (вес гриба без CO_2 принят за 100)
				без CO_2		с CO_2		
	глюкозы на колбу в мг	кислоты на колбу в мг		pH в конце опыта	Вес гриба в мг	pH в конце опыта	вес гриба в мг	
24	300	Янтарная 94,4	3,6	3,6	3,3	4,1	25,2	100 : 763,6
24	300	Яблочная 107,2	4,3	4,3	4,7	4,8	42,5	100 : 904,2
24	300	Аспарагиновая 106,4 . .	4,8	5,1	3,9	6,5	59,3	100 : 1520,5
22	300	Лимонная 168,0	5,3	5,4	0,3	5,7	25,7	100 : 8566,6

присутствие в средах указанных кислот, углекислота ускоряет рост Asp. flavus, или другими словами, в отсутствие углекислоты наблюдается торможение роста гриба.

Отсюда следует, что углекислота не используется грибами для синтеза C_4 и C_6 кислот.

Влияние углекислоты воздуха на рост Rhizopus nigricans на глюкозе с янтарной, яблочной, аспарагиновой и лимонной кислотами

Rhizopus nigricans выращивался на питательной среде № 2, в которую наряду с 800 мг глюкозы вносились по 0,4 мМ янтарной, яблочной, аспарагиновой и лимонной кислот. Ввиду быстрого роста этого гриба опыт продолжался 12 часов. (табл. 3).

Конидии Rh. nigricans на всех испытанных органических кислотах в культурах, снабжаемых углекислотой воздуха, начинают набухать через 4 часа и прорастать через 5—6 часов после посева. На тех же питательных средах при удалении углекислоты из воздуха конидии набухают приблизительно спустя 5 часов и прорастают через 6—7 часов после посева. Таким образом, разница в скорости набухания и прорастания между указанными культурами равняется одному часу. Соответственно этому и различие в весе грибов между культурами с CO_2 и культурами без CO_2 сравнительно с Asp. niger и особенно с Asp. flavus небольшое. Из табл. 3 видно, что урожай в культурах, снабжаемых обычным воздухом, был больше на среде с янтарной кислотой на 55%, с яблочной кислотой на 97%, с аспарагиновой кислотой на 27% и с лимонной кислотой на 111%, чем в культурах, продуваемых воздухом, лишенным углекислоты.

Что касается использования кислот Rhizopus nigricans, то потребление грибами, выращиваемыми в обычном воздухе, составляло для янтарной кислоты 58,8% и для лимонной кислоты 17,1% от веса гриба; в культурах, продуваемых воздухом, лишенным углекислоты, потребление янтарной кислоты составляло 68,3% и лимонной кислотой 36,7% от веса гриба; эти количества кислот вполне покрывали все потребности гриба в C_4- и C_6-кислотах, и тем не менее стимулирующее действие углекислоты проявлялось вполне определенно.

Экономические коэффициенты в данном опыте в культурах, выращиваемых с обычным воздухом, выше, чем в культурах без углекислоты если разница в урожаях этих грибов значительна и экономические коэффициенты почти равны, когда разница в урожаях относительно мала.

Таблица 3

Влияние углекислоты воздуха на рост Rhizopus nigricans на средах с янтарной, яблочной, аспарагиновой и лимонной кислотами

Продолжительность опыта в часах	Питательная среда № 2: глюкозы на колбу в мг	Питательная среда № 2: кислоты на колбу в мг	pH в начале опыта	Продуваемый воздух: без CO_2: pH в конце опыта	без CO_2: Вес гриба в мг	без CO_2: Потреблено глюкозы в мг	без CO_2: Потреблено кислоты в мг	без CO_2: Экономич. коэффициент	с CO_2: pH в конце опыта	с CO_2: Вес гриба в мг	с CO_2: Потреблено глюкозы в мг	с CO_2: Потреблено кислоты в мг	с CO_2: Экономический коэффициент	Отношение веса гриба без CO_2 к весу с CO_2 (вес гриба без CO_2 принят за 100)
12	800	Янтарная 47,2	5,1	4,3	25,6	83,5	17,5	25,3	4,0	39,8	117,5	23,4	28,3	100 : 155,4
12	800	Яблочная 53,6	5,3	4,3	28,5	136,0	не определялось		3,5	56,2	154,0	не определялось		100 : 197,2
12	800	Аспарагиновая 53,2	5,1	4,3	75,5	182,0	„	„	3,5	96,5	211,0	„	„	100 : 127,8
12^{30}	800	Лимонная 84,0	4,4	4,2	23,3	85,7	8,6	24,7	3,5	49,2	145,9	8,4	31,8	100 : 211,1

Данные, полученные с Rhizopus nigricans, приводят к таким же выводам, какие были сделаны, на основании опытов с Aspergillus niger и Aspergillus flavus.

Выводы

1. Углекислота, находящаяся в воздухе, ускоряет рост Asp. niger, Asp. flavus и Rh. nigricans на средах, содержащих янтарную, яблочную, аспарагиновую и лимонную кислоты.
2. Янтарная, яблочная, аспарагиновая и лимонная кислоты не заменяют углекислоту.
3. Стимулирующее действие углекислоты воздуха ясно проявляется на первых стадиях роста грибов, а именно, на набухании и прорастании конидий.
4. Степень стимулирования роста различна у разных видов грибов, она наибольшая у Asp. flavus и наименьшая у Rh. nigricans.
5. Стимулирование роста грибов углекислотой не обусловлено участием ее в синтезе четырехуглеродных двухосновных и шестиуглеродных трехосновных кислот, так как в противном случае стимулирование роста углекислотой не происходило бы при внесении в питательную среду указанных кислот. Другими словами, углекислота не используется плесневыми грибами для синтеза C_4 и C_6 кислот, как это предполагают некоторые исследователи.
6. Причина благоприятного действия углекислоты на рост исследуемых грибов остается не установленной.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 4.II.1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айвазов Б. В., Нейман М. Б. и Тальрозе В. Л. Радиоактивные изотопы углерода и их применение. Успехи химии, 18, 402, 1949.
2. Аристовская Т. В. Использование CO_2 и возможность редукции карбоксила гетеротрофами. Микробиология, X, 701, 1941.
3. Баринова С. А. Влияние углекислого газа на рост плесневых грибов. Микробиология, XXII, вып. 4, 1953.
4. Бродский А. И. Химия изотопов. стр. 216, 1952.
5. Колосов И. И. О механизме поглощения анионов корневыми системами растений. Изв. АН СССР, серия биол., № 5, 529, 1945.
6. Лебедев А. Ф. Об ассимиляции углерода сапрофитами. Изв. Донского гос. универ., 1, 25, 1921.
7. Омелянский В. Л. Практическое руководство по микробиологии, стр. 392, 1940.
8. Очао С. Энзиматический механизм ассимиляции углекислоты. Сб. «Проблема биохимии», 74, 1948.
9. Понтович В. Э. О возможности использования углекислоты в синтетических процессах гетеротрофных организмов. Изв. АН СССР, серия биол., № 5, 120, 1951.
10. Ратнер Е. И. О взаимосвязи между поглощением воды и минеральных веществ растением и роли внутренних факторов. ДАН СССР, 45, 177, 1944.
11. Рубинштейн Д. Л. Физико-химические основы биологии, стр. 183, и 432, 1932.
12. Сабинин Д. А. Минеральное питание растений, стр. 60, 1940.
13. Селибер Г. Л. Углекислота, как фактор жизнедеятельности гетеротрофных организмов и тканей. Природа, № 5—6, 85, 1942.
14. Таусон В. О. Основные черты развития растительной биоэнергетики, стр. 510, 1950.
15. Шапошников В. Н. Углекислота в обмене веществ гетеротрофных бактерий. Микробиология, XXI, 735, 1952.
16. Ajl S. J. a. Werkman C. H. Replacement of CO_2 in heterotrophic metabolism. Arch. Biochem., 19, 483, 1948.
17. Ajl S. J. a. Werkman C. H. Anaerobic replacement of carbon dioxide. Proc. Soc. exp. Biol. a. Med., 70, 522, 1949.

18. Ajl S. J. a. Werkman C. H. On the mechanism of carbon dioxide replacement in heterotrophic metabolism. J. Bact., **57**, 579, 1949.
19. Foster J. W. a. Carson S. F. Metabolic exchange of carbon dioxide with carboxyls and oxidative synthesis of C_4-dicarboxylic acids. Proc. Nat. Acad. Sc., **36**, 219, 1950.
20. Gitterman Ch. O. a. Knight S. G. Carbon dioxide fixation into amino acids of Penicillium chrysogenum. J. Bact. **64**, 223, 1952.
21. Herbert D. Oxalacetic decarboxylase and carbon dioxide assimilation in bacteria. Symposia Soc. Exp. Biol., **5**, 52, 1951.
22. Hes J. W. Function of CO_2 in the metabolism of heterotrophic cells. Nature, **141**, 647, 1938.
23. Krampitz L. O., Wood H. G. a. Werkman C. H. Enzymatic fixation of carbon dioxide in oxalacetate. J. Biol. Chem, **147**, 243, 1943.
24. Krebs H. A. a. Eggleston L. V. Biological synthesis of oxalacetic acids from pyruvic acid and carbon dioxide. Biochem. J., **34**, 1383, 1940.
25. Ochoa S. Biosynthesis of dicarboxylis and tricarboxylis acid by carbon dioxide fixation. Symposia Soc. Exp. Biol., **5**, 29, 1951.
26. Werkman C. H. a. Wood H. G. Heterotrophic assimilation of carbon dioxide. Adv. Enz., **7**, 135, 1941.

ОБОГАЩЕНИЕ СУБСТРАТА АЗОТИСТЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ ПРИ РАЗВИТИИ AZOTOBACTER AGILE И AZOTOBACTER CHROOCOCCUM

И. Л. Работнова и Р. М. Глаголева

В предыдущей работе [3] было показано, что культура азотобактера с желтым пигментом, выделенная с корней ржи и определенная как Az. Beijerinckii [1], обогащает окружающую среду азотистыми веществами. Это происходит при развитии на средах со щелочными солями органических кислот, когда рост несколько замедлен вследствие сильного подщелочения среды. При этом азотфиксация тормозится в меньшей степени, чем размножение. Обогащение среды азотистыми веществами начинается с первых же моментов развития культуры, когда еще не может быть и речи об автолизе. При развитии на средах с сахаром или с Са-солями органических кислот размножение идет более интенсивно и в среде почти не обнаруживается азотистых веществ. Эти наши данные подтвердили теорию Костычева и Виноградского о том, что фиксация азота — процесс двухфазный. Сперва идет накопление промежуточного продукта азотфиксации, а затем его потребление. В условиях замедленного роста потребление отстает от темпа азотфиксации и промежуточный продукт накапливается в среде.

Однако, в противоположность данным Костычева и Виноградского, мы не обнаружили аммиака в качестве промежуточного продукта. Промежуточным продуктом оказалось какое-то другое соединение, природа которого неизвестна, и установить ее трудно ввиду ничтожных количеств образующегося вещества.

Наше предыдущее исследование было проведено с видом, не характерным для почв. Между тем вопрос о прижизненных выделениях азота азотобактером очень важен для понимания его роли в плодородии почвы. Поэтому мы сочли целесообразным повторить наши исследования с типичным обитателем почвы — Az. chroococcum и с Az. agile, который считается преимущественно обитателем вод.

Культуры и методика работы

В работе был использован коллекционный штамм Az. chroococcum 54 и Az. agile 22 Д. Оба штамма тщательно проверялись на чистоту как путем микроскопирования, так и путем высева на МПА. На МПА упомянутые штаммы не развивались, поэтому инфицирование аммонификаторами очень легко обнаружить. Азотобактер выращивался на жидкой среде Эшби с добавлением $(NH_4)_2\ MoO_4$ 0,001%, на водопроводной воде, без мела. Среда наливалась в литровые двугорлые склянки с нижним тубусом и через нее непрерывно просасывался воздух при помощи водоструйного насоса. Через нижний тубус отбирались пробы жидкости по ходу развития культуры. В пробах определялся азот методом микро-кьельдаля в культуре в целом и в фильтрате. Фильтрование производилось через мембранный фильтр № 4. Специальная проба показала, что из мембранных фильтров при фильтровании азотистые вещества не вымываются. Кроме того, производились пробы на аммиак с реактивом Несслера. Подсчет клеток осуществлялся в препаратах по методу Виноградского. Это позволяло обнаружить малейшие следы загрязнения культуры посторонними микроорганизмами. Все нижеприведенные опыты были проведены с безусловно чистыми культурами. Воздух, протягиваемый через культуры, очищался от аммиака пропусканием через 20% H_2SO_4, затем пропускался через воду для увлажнения и через ватный фильтр для стерилизации. После сосудов с культурой ставился небольшой сосуд с 0,01 *N* серной кислотой для улавливания аммиака, если он будет выделяться культурой.

[1] Красильников [2] считает это разновидностью Az. chroococcum.

Опыты по культивированию азотобактера на среде с ацетатом Na (0,5%)

Результаты двух из ряда опытов, проведенных с Az. agile 22 Д, приведены в табл. 1.

Таблица 1

Развитие Az. agile 22 Д и азотфиксация на среде с ацетатом Na

№ опыта	Время взятия пробы в час. от начала опыта	N в мг на 100 мл культуры	N в мг на 100 мл фильтрата культуры	N в фильтрате в % от N в культуре	N в мг на 100 мл культуры уловленный в 0,01 *N* H_2SO_4 в расчете на NH_3	Количество клеток в млн. на 1 мл	pH
I	18	2,47*	—	—	—	—	—
	26	—	2,3	—	0,17	8,7	—
	41	2,8	—	—	0,27	44,0	—
	52	2,4	2,0	83	0,31	83,7	—
	68	2,4	1,4	58	0,70	64,0	—
II	19	2,0	1,67	83	0,14	1,8	8,0
	29	2,3	1,9	83	0,30	22,5	8,3
	46	—	—	—	0,24	40,2	—
	65	3,35	—	—	0,40	80,5	—
	77	3,80	—	—	0,90	112,7	9,6

* Исходное содержание азота в засеянной среде в пределах 0,5 мг на 100 мл.

Данные табл. 1 показывают, что в опыте I максимальный урожай клеток достигает 83,7 млн. на 1 мл на 52-м часу развития культуры, а позже количество клеток падает, так как наступает автолиз культуры (это видно на микроскопических препаратах). В опыте II на 77-м часу было 112,7 млн. клеток. В фильтрате культуры оказывается бóльшая часть фиксированного азота, до 83%. С реактивом Несслера фильтрат дает зеленоватую окраску и обильный бледножелтый осадок. Цвет сильно отличается от того желтого оттенка, который дает реактив Несслера с аммонийными солями. Таким образом, азот фильтрата не является азотом аммиака.

Хроматографическая проба на аминокислоты с нингидрином, произведенная на вторые сутки развития культуры, оказалась отрицательной. Следовательно, азот фильтрата не является также и азотом аминокислот [2]. В титрованной серной кислоте, через которую проходит воздух, поступающий из культуры, оказалось небольшое, но явно уловимое количество аммиака. С реактивом Несслера получается слабая положительная реакция на аммиак, соответствующая тому небольшому количеству его, которое показывает титрование. Таким образом, можно сказать, что при культивировании Az. agile 22 Д на среде с ацетатом Na в среде накапливаются азотистые вещества пока неизвестной нам природы, и вместе с воздухом, проходящим через культуру, летит небольшое количество аммиака. Очень существенным нам представляется то, что азот в фильтрате культуры и аммиак обнаруживаются в еще очень молодой культуре, находящейся в стадии самого интенсивного размножения.

Результаты опытов с Az. chroococcum 54 приведены в табл. 2.

[2] Хроматографическую пробу производила аспирант кафедры биохимии животных МГУ П. Л. Вульфсон.

Таблица 2

Развитие Az. chroococcum 54 и азотфиксация на среде с ацетатом натрия

№ опыта	Время взятия пробы в час. от начала опыта	N в мг на 100 мл культуры	N в мг на 100 мл фильтрата культуры	N в фильтрате в % от N в культуре	N в мг на 100 мл культуры, уловленных в 0,01 N H_2SO_4 в расчете на NH_3	Количество клеток в мл на 1 мл	pH
I	15	2,47	1,59	64	—	8,0	—
	24	2,79	2,15	78	—	10,6	—
	42	—	—	—	—	19,3	—
	67	3,67	2,55	70	—	54,7	—
	92	3,27	1,51	46	—	151,3	—
II	10	0,94	—	—	0,011	3,2	8,0
	24	1,62	—	—	0,02	6,7	—
	33	2,16	—	—	0,07	13,2	8,3
	48	2,63	1,42	66	—	29,6	—
	57	3,98	1,96	50	0,015	128,0	—
	70	2,77	1,48	54	0,026	96,6	9,6

В опыте 1 количество клеток на 92-м часу достигло 151 млн. на 1 мл. В фильтрате оказалось до 78% фиксированного азота в первые сутки, а затем несколько меньшее количество — 46%. В опыте II, давшем аналогичные результаты, определялось количество аммиака, выносимое из культуры вместе с воздухом. Оно оказалось незначительным. В этих опытах, как и во всех остальных, фильтрат культуры давал уже упомянутую слабую зеленоватую окраску с реактивом Несслера и осадок. Среда по ходу развития культуры сильно подщелачивается. Через 10 часов pH уже был равен 8,0, а в конце опыта — 9,6.

Опыты по культивированию азотобактера на среде с глюкозой (0,5%)

Оба вида азотобактера выращивались в тех же условиях, что и в предыдущих опытах, но источником углерода была глюкоза. Результаты этих опытов приведены в табл. 3.

Опыты по выращиванию на глюкозе показали, что обе культуры выделяют лишь ничтожное количество аммиака. В фильтрате обнаруживается некоторое количество азота, но оно меньше по отношению к общему количеству фиксированного азота, чем в опытах с ацетатом натрия: 66% в первый период развития культуры, а затем 21 и 27%.

Опыты по культивированию азотобактера на среде с лактатом Na (0,5%)

Az. agile 22 Д выращивался на среде с лактатом Na в качестве источника углерода. Результаты приведены в табл. 4.

Подщелочение среды при росте азотобактера на этой физиологически щелочной соли происходило медленнее, чем на ацетате Na. В период максимального развития культуры, на 48-м часу pH был равен 7,8 и только уже в старой, автолизирующейся культуре подщелочение доходило до 9,6. Развитие было исключительно обильным — лучше, чем за счет сахара. Количество азота в фильтрате заметное, но по отношению к общему количеству фиксированного азота составляет половину в начале развития, а в конце оно сокращается до 22%. Определение аммиака в фильтрате диффузионным методом [1] на 48 и 62-м часу дало отрицательный результат. С реактивом Несслера — зеленоватая окраска, как и в предыдущих опытах. Культура выделила ничтожное количество аммиака.

Таблица 3

Развитие азотобактера и азотфиксация на среде с глюкозой

Культура	Время в час. от начала опыта	N в мг на 100 мл культуры	N в мг на 100 мл фильтрата культуры	N в фильтрате в % от N в культуре	N в мг на 100 мл культуры, уловленный в 0,01 N H_2SO_4 в расчете на NH_3	Количество клеток в млн. на 1 мл
Az. agile	10	0,95	—	—	0,02	22,5
	25	2,87	1,60	56	0,018	74,0
	33	2,87	—	—	0,008	177,1
	51	2,77	1,64	57	0,013	—
	73	4,20	1,65	39	—	193
	95	5,00	—	—	—	193
	102	7,30	1,54	21	—	128
Az. chroococcum	10	1,69	1,08	64	0,008	28,9
	25	2,63	1,55	59	0,01	74,0
	33	2,70	1,78	66	0,0015	96,6
	51	2,97	1,60	54	0,013	99,8
	73	4,79	—	—	0,006	99,8
	95	4,20	2,50	59	0,20	—
	102	10,70	2,90	27	0,00	96,6

Таблица 4

Развитие Az. agile 22 Д и азотфиксации на среде с лактатом Na

Время в час. от начала опыта	N в мг на 100 мл культуры	N в мг на 100 мл фильтрата культуры	N в фильтрате в % от N в культуре	N в мг, на 100 мл культуры, уловленный в 0,01 N H_2SO_4 в расчете на NH_3	Количество клеток в млн. на 1 мл	pH
15	2,29	—	—	—	10,6	—
24	2,97	1,55	52	0,019	32,2	—
37	3,58	1,89	53	0,027	139,1	—
48	4,05	2,09	52	—	—	7,8
62	4,73	2,23	47	0,020	259,1	8,8
69	5,27	—	—	—	228,6	—
88	10,34	2,23	22	0,090	183,5	9,6

Обсуждение результатов

Az. agile и Az. chroococcum при развитии на безазотистых средах при непрерывной аэрации обогащают окружающий раствор азотистыми веществами. Природа этих веществ неизвестна, но это не аммиак и не аминокислоты. Эти вещества обнаружены при культивировании на ацетате натрия, глюкозе и лактате натрия. На ацетате натрия развитие идет несколько замедленным темпом. В этих условиях бóльшая часть фиксированного азота, до 80%, находится в окружающем растворе. Кроме того, воздух, проходящий через культуру, увлекает с собой небольшое, но вполне ощутимое количество аммиака, особенно в культуре Az. agile.

На глюкозе и лактате натрия развитие идет более быстро и обильно. В этих условиях азот в фильтрате составляет меньшую часть всего фиксированного азота, чем на ацетате, и доходит до 50%; аммиак культурой выделяется в ничтожном количестве.

Таким образом, типичные обитатели почвы и воды Az. chroococcum и Az. agile не только отдают в субстрат азот, накопленный в теле в виде белка после распада клеток, но и при жизни, в первые же моменты разви-

тия культуры обогащают среду азотистыми веществами, в том числе и аммиаком.

Самый факт обогащения среды азотистыми веществами в период интенсивного размножения культуры, когда об автолитических процессах не может быть и речи, подтверждает взгляды Костычева и Виноградского на азотфиксацию как на двухфазный процесс: сперва идет образование промежуточного продукта, а потом его потребление азотобактером.

Об этом свидетельствует то, что процент азота в фильтрате убывает с возрастом культуры, т. е. происходит потребление клетками фиксированного азота.

Выводы

1. При развитии Az. agile 22 Д и Az. chroococcum 54 на среде с ацетатом натрия с первых же моментов развития культуры обнаруживается обогащение среды растворимыми формами азота — до 80% от всего фиксированного азота. Это не аммиак и не аминокислоты.
2. В культуре Az. agile 22 Д часть фиксированного азота выделяется в виде NH_3.
3. На среде с глюкозой и лактатом Na также обнаруживается азот в фильтрате культуры, но в меньшем количестве по отношению ко всему фиксированному азоту — 50—60%. Развитие на этих субстратах идет быстрее и обильнее, чем на ацетате.
4. Количество азота в среде сокращается по мере развития культуры.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова
Биолого-почвенный научно-исследовательский
институт

Получено 8.X.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белозерский А. Н. Проскуряков Н. И. Практическое руководство по биохимии растений. Советская наука, 1951 г.
2. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов, Изд-во АН СССР, М.—Л., 1949.
3. Работнова И. Л. и Родионова Г. С. Обогащение субстрата азотистыми веществами при развитии Az. Beijerinckii. Микробиология, XXII, вып. 4, 1953.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ УКСУСНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

М. С. Лойцянская

Мичуринская биология учит, что причиной изменчивости живых существ являются изменения условий их жизни. Из этого следует, что, изменяя условия жизни микроорганизмов и вынуждая их усваивать, ассимилировать эти новые, необычные условия, можно направленно изменять их наследственность.

Многие производственные культуры бактерий и грибов получены благодаря их приспособлению к тем условиям жизни, которые для них создавались в том или ином производстве. Именно таким путем из хлебопекарных рас Sacch. cerevisiae выведены те специализированные расы, которые используются в производстве спирта из сельскохозяйственного сырья, из гидролизатов древесины, из сульфитных щелоков.

Бактерии скорого способа производства уксуса выведены в середине XIX в. производственниками из винных бактерий путем изменения условий их питания, при замене такой богатой органическими веществами питательной среды, как вино, на раствор минеральных солей и спирта.

Бактерии вынуждены были измениться, приспособиться к этой чуждой им среде обитания. Это выразилось в том, что они стали более спирто- и кислотоустойчивыми, чем винные бактерии, изменили свой температурный оптимум, приобрели способность самостоятельно синтезировать витамины и витаминоподобные вещества и хорошо расти в синтетической среде, содержащей азот в минеральной форме.

Таким же образом уже в последние десятилетия получены культуры уксуснокислых бактерий, использующиеся в производстве витамина С, отличающиеся от пивных уксуснокислых бактерий, от которых они, повидимому, произошли, активностью окисления больших концентраций сорбита (15—20%), наряду со слабой способностью окисления этилового спирта и высокой чувствительностью к уксусной кислоте.

Этими фактами из производственной практики, так же как новейшими исследованиями советских микробиологов по проблеме изменчивости, подтверждается высказывание Лысенко о том, что «микроорганизмы, имеющие непродолжительный период жизни, наиболее легко наследственно приспособляются к изменяющимся условиям внешней среды» [4].

Явления изменчивости уксуснокислых бактерий привлекали к себе внимание исследователей, однако причины, их вызывающие, или совсем не объяснялись, или объяснялись неправильно.

Этой теме была посвящена работа Кривиского [1], который получал измененные культуры Bact. aceti, Bact. kuetzingianum, Bact. pasteurianum и Bact. schüzenbachii при воздействии на них радона, ультрафиолетовых и рентгеновых лучей и высокой температуры (50—60°). Полученные им данные автор трактовал с позиции мутационной теории изменчивости. Поэтому подлинные причины изменчивости бактерий в этой работе не могли быть выяснены; полученные новые расы не могли быть использованы в практике, так как отличались пониженной окислительной активностью.

Шаинская [6, 7] наблюдала изменчивость формы колоний и окислительной активности бактериальных культур в производственных и в лабораторных условиях при длительном культивировании и характеризовала эти изменения как явление «диссоциации». Складчатые варианты Bact.

curvum и Bact. schuzenbachii проявляли себя как более активные кислотообразователи.

Работнова [5] также сообщает о «диссоциации» у бактерий скорого способа производства уксуса, однако существенных различий в кислотообразовании у складчатых и гладких вариантов ею отмечено не было. В этих работах констатируются явления изменчивости уксуснокислых бактерий без объяснения причин их возникновения.

Многочисленные наблюдения советских микробиологов говорят о том, что изменчивость микроорганизмов затрагивает как физиологические признаки (изменений функций), так и связанные с ними морфологические признаки (изменения формы). Изменение морфологических и культуральных признаков, потребности в тех или других химических соединениях, биохимической активности — формы проявления изменчивости микроорганизмов в результате непосредственного воздействия внешней среды.

Иных взглядов на явление изменчивости придерживаются те буржуазные микробиологи, которые стремятся доказать постоянство видов микроорганизмов. Они объясняют наблюдаемые ими изменения не как возникновение нового качества, а лишь как обнаружение, раскрытие ранее существовавших, неизменных свойств микроорганизмов. Развертывание этих преформированных признаков связано, по их мнению, с переходом микроба в новую фазу онтогенетического развития. Сторонники этих взглядов отвергают активную роль внешней среды в формировании наследственности. Они считают, что условия жизни лишь создают условия, необходимые для перехода микроорганизма из одной стадии цикла в другую.

Для обозначения этих явлений был подобран соответствующий термин: «диссоциация», т. е. расщепление, термин, ничего не говорящий о появлении новых качеств а указывающий лишь на проявление уже существующих. При таком понимании «диссоциация» не имеет ничего общего с изменчивостью микроорганизмов и исключает возможность активной переделки их природы.

Учение о «диссоциации» отвлекло внимание микробиологов от правильного объяснения явлений изменчивости, от правильного анализа взаимоотношений микроорганизмов с окружающей их внешней средой. Отчасти поэтому многие наблюдения изменчивости микроорганизмов не получали объяснения и причины изменчивости оставались невыясненными.

В течение ряда лет нам приходилось наблюдать изменчивость уксуснокислых бактерий в аппаратах уксусного завода и в лабораторных условиях. Мы обнаруживали изменчивость многих свойств этих бактерий: требований к питательной среде, окислительной активности, культуральных и морфологических особенностей. Нам приходилось также наблюдать появление в культурах бактерий гладких и складчатых форм колоний и удавалось вызывать их появление в экспериментальных условиях.

Некоторые из этих наблюдений приводятся в настоящем сообщении.

Объектом в данной работе служила уксуснокислая бактерия Acetobacter acetovorum [2]. Эта бактерия была выделена нами из аппарата уксусного завода, в котором наблюдалось «переокисление».

Колонии Acetobacter acetovorum на плотных питательных средах — крупные, выпуклые, сильно складчатые. Бактерии, выделенные из этих колоний, образуют в жидких питательных средах, содержащих уксусную кислоту, плотную, бархатистую сильно складчатую пленку, под которой находится совершенно прозрачная жидкость. Растут они при высокой концентрации уксусной кислоты (6—7%). Кислоту при этом энергично потребляют, используя ее в качестве питательного вещества и источника энергии. Активно окисляют этиловый спирт. В питательных средах, содержащих многоатомные спирты или глюкозу (pH = 3,5—4,0) без уксусной кислоты, развиваются только в виде незначительной мути и очень слабо

окисляют эти соединения. В присутствии уксусной кислоты наблюдается ее потребление, интенсивный рост бактерий и активные окислительные превращения.

При работе с Acetobacter acetovorum мы выращивали бактериальную культуру в двух питательных средах: в сусле с 3% спирта и в сусле с 5% уксусной кислоты.

Таблица 1

Сравнительная характеристика культур Acetobacter acetovorum, образующих гладкие и складчатые колонии

Морфологические и физиологические признаки	Складчатые колонии	Гладкие колонии
Размеры бактерий	1,6 : 0,7 μ	1,8 : 0,8 μ
Окраска по Граму	Отрицательная	Отрицательная
Реакция на целлюлозу	Положительная	Положительная
Характер роста в сусле с 3% спирта	Образуют плотную сильно складчатую, прочную пленку. Жидкость под пленкой прозрачная	Образуют тонкую хрупкую, легко рассыпающуюся пленку
Колонии на сусле-агаре с 3% спирта	Крупные, до 8 мм в диаметре, складчатые, выпуклые, с неровными краями. Поверхность бархатистая	Более мелкие: 1—2 мм в диаметре, круглые, гладкие с ровными краями
Кислотообразование в дрожжевой воде с арабинозой, глюкозой, галактозой, фруктозой, сахарозой, мальтозой, лактозой, рафинозой, глицерином, маннитом, сорбитом	Образуют глюконовую кислоту при окислении глюкозы. Незначительное кислотообразование в среде с арабинозой. В остальных случаях кислотообразования нет	Образуют глюконовую кислоту при окислении глюкозы. Незначительное кислотообразование в среде с арабинозой. В остальных случаях кислотообразования нет
Окисление этилового спирта	Окисляют более активно	Окисляют менее активно
Устойчивость к уксусной кислоте	Растут в присутствии 6—7% уксусной кислоты	Менее устойчивы к уксусной кислоте. Растут в присутствии 2% уксусной кислоты
Использование уксусной кислоты	Активно используют уксусную кислоту	Менее активно используют уксусную кислоту

После нескольких месяцев культивирования при рассевах из культуры в сусле со спиртом, произведенных на сусло-агаре со спиртом, было замечено, что среди обычных крупных складчатых колоний всегда появляются мелкие колонии, которых нет в рассевах из культуры в сусле с 5% уксусной кислоты. Рассевы повторялись нами многократно и во всех случаях из культуры в сусле со спиртом мы получали около 3% гладких колоний.

Выделенные из этих гладких колоний бактерии значительно отличались от бактерий складчатых колоний. Сравнительная характеристика бактерий из гладких и складчатых колоний приводится в табл. 1.

Мы видим, что различия наблюдаются как в морфологических и культуральных, так и в физиологических признаках.

Значительные отличия выявляются в отношении к уксусной кислоте. Бактерии, образующие гладкие колонии, менее устойчивы к уксусной кислоте и менее энергично используют ее, чем бактерии исходной культуры, образующие складчатые колонии (табл. 2).

Таблица 2

Использование уксусной кислоты Acetobacter acetovorum (культуры из колоний гладких и складчатых; длительность опытов 5 суток).

Бактерии из колоний	Уксусная кислота			Характер роста
	дано в г	Использовано		
		в г	в %	
Складчатых	3,69	3,40	92,14	На поверхности жидкости плотная складчатая пленка; раствор прозрачный
	3,69	3,62	98,10	
	2,72	2,48	91,17	
	2,72	2,58	94,85	
	3,44	3,38	98,27	
	3,44	3,20	93,00	
Гладких	3,69	2,00	54,20	На поверхности жидкости тонкая, нежная пленка; раствор мутный
	3,69	2,20	59,60	
	2,72	1,26	46,32	
	2,72	0,60	22,04	
	3,44	1,42	41,28	
	3,44	1,64	47,07	

Стремясь объяснить появление в культуре Acet. acetovorum бактерий, образующих гладкие колонии, мы высказали следующее предположение. Acet. acetovorum требует для своего развития значительных количеств уксусной кислоты, так как последняя является для нее необходимым питательным веществом. При культивировании в сусле с 5% уксусной кислоты в период наиболее интенсивного размножения бактерии получают ее в достаточном количестве. Изменения наследственности бактерий при этом не происходит. Это подтверждается рассевами, при которых развиваются всегда только однородные складчатые колонии.

При культивировании в сусле с 3% спирта создаются иные условия. Нами установлено, что в жидких питательных средах для уксуснокислых бактерий с небольшой концентрацией этилового спирта при стоянии в термостате при 30° уже через сутки испаряется 12%, а через 4 суток — 50% спирта [5]. Развитие бактерий наступает обычно на 3—4-й день, т. е. тогда, когда спирта остается всего лишь 50%, поэтому уксусной кислоты образуется немного и не все бактерии получают этот необходимый им источник углерода. Они вынуждены ассимилировать другие соединения углерода, возможно, мальтозу сусла или продукты ее гидролиза, т. е. изменить свой обмен веществ, свои требования к питательной среде. Одновременно с изменениями в обмене веществ происходят изменения морфологических и культуральных признаков. Разливки выявляют эти изменения: среди складчатых колоний встречаются гладкие колонии изменившихся Acetobacter acetovorum.

Однако нам могут возразить, указав, что изменившиеся условия жизни бактерий только выявляют уже имевшиеся в исходной культуре клетки,

образующие гладкие колонии. Внешняя среда только селекционирует наиболее приспособленные к данным условиям бактерии. При культивировании в сусле со спиртом произошел отбор наиболее приспособленных к развитию в данной питательной среде клеток, что и выявилось при рассевах.

Сторонники учения о «диссоциации» могут предложить еще одно объяснение: изменившиеся условия жизни только выявили уже ранее существовавшее у этих бактерий свойство образовывать гладкие колонии, соответствующие определенной стадии их онтогенеза, способствовали переходу бактерий из одной стадии цикла (со складчатыми колониями) в другую (с гладкими). В разливках обнаружилась «диссоциация» — расщепление признаков, а не изменение наследственности.

Таблица 3

Количество гладких и складчатых колоний Acetobacter acetovorum при рассевах на сусло-агар со спиртом после культивирования в сусле с уксусной кислотой или в сусле с этиловым спиртом

Длительность культивирования в месяцах	Число пересевов	Культивирозание на сусле							
		с 5% уксусной кислоты				с 3% этилового спирта			
		гладкие		складчатые		гладкие		складчатые	
		количество	%	количество	%	количество	%	количество	%
2	4	0	0	432	100	20	5	381	95
3,5	7	0	0	201	100	38	9	379	91
6	12	0	0	678	100	91	23	307	77

Для обоснования высказанного нами предположения о том, что появление гладких колоний есть результат изменчивости Acet. acetovorum соответственно изменившимся условиям жизни, мы провели культивирование бактерий, образующих складчатые колонии в течение 6 месяцев с пересевами через 12—17 дней в сусле с 5% уксусной кислоты и параллельно в сусле с 3% спирта без добавления уксусной кислоты. После каждого пересева производились рассевы из бактериальной пленки на сусло-агар со спиртом (pH = 4,0). В табл. 3 приводятся некоторые из полученных данных о количестве обнаруженных при этом гладких и складчатых колоний.

При рассмотрении данных табл. 3 видно, что в случае культивирования в сусле с уксусной кислотой последующие рассевы (на сусле-агаре со спиртом pH = 4,0) не выявляют бактерий, образующих гладкие колонии. Между тем, если считать, что внешняя среда играет только селекционирующую роль и если объяснять появление гладких колоний в наших опытах только отбором, то весьма трудно объяснить отсутствие расщепления в данном случае.

Сусло-агар со спиртом без уксусной кислоты — благоприятная среда для развития бактерий, дающих гладкие колонии, но почему же они в этом случае не выявились?

При рассевах из культур в сусле со спиртом среди складчатых колоний были обнаружены гладкие. Их появление говорит о том, что при культивировании в сусле со спиртом бактерии, не получающие необходимого им количества уксусной кислоты, изменяются, приобретают свойства, отличающие их от бактерий, образующих складчатые колонии. Они менее требовательны к наличию уксусной кислоты в среде и менее активно ее используют. При культивировании в сусле со спиртом количество этих измененных бактерий, дающих гладкие колонии, постепенно увеличивается, а количество неизмененных клеток, дающих складчатые колонии,

уменьшается. При рассевах через 6 месяцев мы получили 23% гладких колоний, при общем их количестве в 398.

Эти данные говорят о том, что образование гладких колоний Acetobacter acetovorum вызвано изменением условий жизни, недостатком в питательной среде уксусной кислоты, являющейся необходимым питательным веществом для этих бактерий. Именно это обстоятельство вынуждает бактерии ассимилировать другие источники углерода и изменять свою наследственность.

Выводы

1. Объектом исследования служили уксуснокислые бактерии Acetobacter acetovorum, образующие складчатые колонии. При развитии в питательных средах, содержащих уксусную кислоту, эти бактерии активно используют уксусную кислоту, являющуюся для них необходимым питательным и энергетическим веществом.

2. При культивировании Acetobacter acetovorum в питательной среде, содержащей недостаточные количества уксусной кислоты, наблюдается их изменчивость. Измененные бактерии образуют гладкие колонии. Они менее устойчивы к уксусной кислоте и менее активно ее используют.

3. Изменчивость Acetobacter acetovorum объясняется тем, что некоторые клетки из популяции, требования которых в уксусной кислоте не удовлетворяются, вынуждены ассимилировать другие источники углерода и изменяют при этом свою наследственность.

Ленинградский государственный университет им. А. А. Жданова

Получено 12, VI. 1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кривицкий А. С. О наследственных изменениях у уксуснокислых бактерий. Диссертация, 1938. Библ. 1-го Медицинского ин-та в Ленинграде.
2. Лойцянская М. С. О новом виде уксуснокислых бактерий. Микробиология, XXII, вып. 4, 1953.
3. Лойцянская М. С. и Гурфель Д. Б. Влияние глюкозы на накопление уксусной кислоты уксуснокислыми бактериями. Тр. Лен. об-ва естествоиспытателей, LXX, вып. 3, 1950.
4. Лысенко Т. Д. Агробиология. 1948, стр. 381.
5. Работнова И. Л. Влияние внешних условий на уксуснокислое брожение. Микробиология, XIII, вып. 4, 1944.
6. Шаіньска І. М. Селекція активных варіантив ацетовокислых бактерий. Мікробіол. ж. Укр. Ак. наук, II, № 3, 1935.
7. Шаинская И. М. Изменчивость уксуснокислых бактерий B. schüzenbachii. Микробиология, XIX, вып. 5, 1950.

ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИОЛОГИИ ПИТАНИЯ OSCILLATORIA SPLENDIDA GREW И OSCILLATORIA AGARDHII GOM. В СВЯЗИ С ОБРАЗОВАНИЕМ И НАКОПЛЕНИЕМ ЗАПАХОВ И ПРИВКУСОВ ВОДЫ

I. ОПЫТЫ НА ИСКУССТВЕННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ РАСТВОРАХ

В. И. Успенская

Изучение физиологии питания Os. splendida и Os. agardhii было предпринято с целью решения вопроса о появлении и накоплении специфических запахов и привкусов в воде.

В данной статье мне хотелось подробно остановиться на опытах по физиологии питания двух вышеупомянутых осцилляторий. Os. splendida взята из Академии наук, культура Горюновой, а Os. agardhii выделена из пленки, привезенной с реки. Обе культуры были альгологически чистые и не содержали актиномицетов. Бактериально чистые культуры не были получены, так как очистка культур осцилляторий от бактерий затруднена тем, что на стенках их нитей поселяется неспороносная слизеобразующая бактерия, крепко прилипающая к оболочке осцилляторий и поэтому трудно устранимая.

При проверке на чистоту культуры (посев на чашке Петри с МПА) выростали всегда бактерии, относящиеся к роду Pseudomonas.

Приступая к изучению физиологии питания двух вышеназванных осцилляторий, в первую очередь необходимо было подобрать питательные растворы, на которых бы они не только хорошо росли, но и нормально развивались.

Надо указать, что питательных растворов, специально выработанных для культивирования осцилляторий нет, и поэтому при ведении их культур обычно пользуются растворами, рекомендуемыми для синезеленых водорослей вообще (Еленкин [8]), или для других водорослей [Бенеке (Beneke [13]) и др.]. Правда, для Os. splendida имеется питательный раствор, предложенный Горюновой [4; 5], но он отличается обилием азота и фосфора, что удаляет организм от природной обстановки.

Опыты с Os. splendida на минеральных питательных растворах

Постановка опытов на минеральных питательных растворах имела целью выяснить: 1) при каких условиях происходит лучший рост и развитие Os. splendida и 2) причину появления и накопления землистого запаха и привкуса в культурах.

При выборе питательных сред я исходила из положений, выдвинутых Успенским [10], о том, что общая концентрация питательных солей при культивировании водорослей не должна превышать 0,02%, так как обилие азота и фосфора делает организм мало пластичным и не позволяет выявлять связи между его морофологическими особенностями и физиологией. Кроме того, высокая концентрация фосфорной кислоты исключает возможность дозировать железо, которое для некоторых организмов крайне необходимо.

Первые опыты были поставлены с Os. splendida на трех питательных растворах: 1) раствор Горюновой [4; 5], 2) питательный раствор № 1 Успенского и 3) питательный раствор № 3 Успенского [11].

Состав этих растворов был следующий:

питательный раствор № 1: KNO_3—0,025 г; $MgSO_4$—0,025 г; $Ca(NO_3)_2$—0,1 г; KH_2PO_4—0,025 г; K_2CO_3—0,0345 г.

питательный раствор № 3: $MgSO_4$—0,025 г; $Ca(NO_3)_2$—0,005 г; KH_2PO_4 — 0,005 г; CaO — 40мг/л. Оба раствора приготовлялись на дистиллированной воде (1 л) с pH = 7,3—7,6. Железо в форме $Fe_2(SO_4)_3$ или $Fe(NH_4)(SH_4)_2$ вносилось после стерилизации в количестве 1 мг/1 л.

Взятый в качестве контроля раствор Горюновой был следующий: $Ca(NO_3)_2$— 0,5 г; KH_2PO_4— 0,3 г; $MgCl_2$— 0,1 г; $FeSO_4$— 10 мг/1 л и следы любой соли молибдена и ванадия в 1 л водопроводной воды.

Предварительные опыты, поставленные на трех вышеуказанных питательных растворах, позволили отметить, что за время опытов землистый запах чаще всего появлялся в культурах с питательным раствором № 3 (0,8 мг/л нитратного азота) и реже всего в питательном растворе Горюновой. Эти наблюдения позволили предположить, что причина появления землистого запаха связана с нарушением питания, вызванным нарушением обмена веществ. Поэтому следующей нашей задачей было выяснить, какие же именно неблагоприятные условия, наступающие в питательной среде, вызывают появление и накопление землистого запаха в растворе.

Для выяснения этого вопроса были поставлены опыты с теми же питательными растворами, только по мере роста Os. splendida в них периодически производился анализ на pH, Fe, окисляемость и нитратный азот. Результаты некоторых анализов сведены в табл. 1 Полученные данные позволили установить, что по мере длительности опыта, во всех питательных растворах наблюдалось повышение землистого запаха и учащалось появление его. Окисляемость и pH повышались также, а окисное железо и нитратный азот уменьшались, иногда до полного исчезновения. Было выяснено также, что после первого месяца роста наблюдаются изменения и в поведении самой пленки, а именно: она уплотняется, как будто стремясь уменьшить свою поверхность. Одновременно с этим в растворе появляется взвесь из гормогоний и землистый запах.

В растворе Горюновой все эти явления протекают менее выраженно и более медленно, очевидно потому, что через два месяца в этом растворе остается еще много нитратного азота (см. табл. 1) и других питательных солей, за исключением окисного железа.

В питательном растворе № 3 Os. splendida, как правило, растет плохо. Первоначально развившаяся пленка быстро приобретает хлоротичный вид и свертывается в маленький комочек. Периодически наблюдается массовое образование мелких гормогоний, отчего раствор становится мутным. В это время обычно появляется землистый запах, равный 4—5 баллам. Землистый запах в этом растворе наблюдался в течение опыта 12 раз, из них 8 раз не менее 3—5 баллов. В питательном растворе № 1 и в растворе Горюновой землистый запах наблюдался в этот же срок не более 5—6 раз (сила запаха 2—3 балла). Анализ, проведенный через $1^1/_2$ месяца в питательном растворе № 3, показывает отсутствие нитратного азота и окисного железа и увеличение окисляемости до 11—12 мг/л O_2. Сопоставление полученных данных по окисляемости в питательном растворе № 3 с ростом и состоянием Os. splendida позволяет предполагать, что увеличение окисляемости и появление землистого запаха в растворе происходит во время отмирания нитей и автолиза их. Микроскопический анализ показал, что главная масса комочка из осцилляторий состоит из слизи, в которой в небольшом количестве встречаются целые слабо окрашенные нити; большинство же нитей разрушены, благодаря происшедшему автолизу.

Эти наблюдения, проведенные неоднократно, позволили предположить, что появление землистого запаха в растворе и связанное с ним повышение окисляемости происходит главным образом при голодании осциллятории, а так как Os. splendida принадлежит к азотолюбивым организмам, то она наиболее чувствительна к недостатку последнего.

Таблица 1

Влияние условий культивирования Os. splendida на появление и силу запаха

(Температура 18—20°; освещение естественное)

Питательные растворы		Время роста и состояние культур	Запах в баллах и частота его появления		pH	Fe⁺⁺⁺	Окисляемость в мг/O_2 на л	Нитратный азот в мг/л
Название	NO_3 в мг/л		в течение опыта	всего				
Раствор Горюновой	85	2 недели. Растет	Нет		7,6	—	4,9	Не определялось
		1 месяц. Рост интенсивный	Нет		7,7	—	8,6	70
		1,5 месяца. Пленка уплотнилась; гормогонии есть	1—2	6	7,9	0,2	13,6	62
		2 месяца. Пленка уплотнилась; взвесь из гормогоний	2—3		8,0—8,1	0	16,1	50
Питательный раствор № 1	20	1 месяц. Растет	Нет		7,5	0,3	4,6	11,6
		1,5 месяца Пленка уплотнилась; много гормогоний	2—3	8	7,9	0,25	10—12	0,5—0,3
		2 месяца. Рост прекратился; густая взвесь из гормогоний	4—5		8,2	0	18—20	0
Питательный раствор № 3	0,8	1 месяц. Рост плохой; пленка тонкая; цвет хлоротичный	2	12	7,7	—	—	Не определялось
		1,5 месяца. Лежит на дне в виде комочка; большая взвесь из гормогоний	4—5		7,8	0	11	Следы
		2 месяца. Роста нет; лежит на дне в виде маленького комочка	4—5		7,9	0	12	0

Для выяснения интересующего нас вопроса был поставлен дополнительный опыт при температуре 23—24° и ярком искусственном освещении. Для опыта была взята Os. splendida, которая длительное время культивировалась на растворе Горюновой. Пленка была большая, интенсивно зеленого цвета, но осциллятория не была переупитана, что очень важно для данного опыта. Выросшая пленка была разделена на 3 более или менее равные части, которые были перенесены в три вышеуказанные питательные раствора. Уже через два дня можно было наблюдать резкую разницу в поведении пленки в этих растворах. В то время как в питательном растворе № 1 и в растворе Горюновой пленка стала интенсивно разрастаться по всей поверхности жидкости, в растворе № 3 она уплотнилась и лежала в виде порядочного комка на дне колбы. На четвертый день в этой культуре появился еле заметный землистый запах, а на пятый день раствор стал мутный из-за обильно выделившейся слизи. Раствор имел резкий землистый запах, больше 5 баллов. Произведенный в этот день анализ показал, что нитратный азот отсутствовал, а окисляемость возросла до 46 мг/л O_2. В контрольных культурах азота осталось еще достаточное количество. В питательном растворе № 1 осталось 5 мг/л, а в растворе Горюновой 36 мг/л. Окисляемость повысилась до 10 мг/л O_2.

В питательном растворе № 3 запах (в 5 баллов и выше) удерживался две недели, затем он стал постепенно ослабевать и подконец исчез совсем, а раствор стал снова прозрачным.

В контрольных культурах за этот срок пленки сильно разрослись. Осциллятория же в питательном растворе № 3 еще больше уплотнилась и по своей внешней форме напоминала скорее носток, чем осцилляторию. При микроскопировании через 12 дней было найдено, что комочек осциллятории главным образом состоял из слизи и распавшихся нитей. Живых нитей осталось мало.

Обильное образование слизи в растворе, наблюдавшееся в культуре Os. splendida в питательном растворе № 3, очевидно, можно объяснить азотным голоданием, наступившим в этой культуре одновременно с подщелочением среды. Обильное образование слизи наблюдалось также у Stigeoclonium tenue (Успенская [12]) при переходе его в пальмеллевидное состояние, которое возникало при подщелочении среды и азотном голоде.

Описанные опыты позволяют заключить, что Os. splendida выделяет сильный землистый запах в раствор (5 баллов и больше) при резком изменении режима питания или при длительном голодании, что приводит к гибели и распаду большинства нитей. Менее сильный запах, равный 2—3 баллам, обычно связан с появлением гормогониев. При этом более сильный землистый запах появляется и более длительно держится в том случае, когда в растворе образуется густая взвесь из мелких гормогониев, что часто влечет за собой распад большей части пленки. Обильное образование гормогониев обычно возникает при наступлении неблагоприятных условий в среде; при недостатке азота, железа и при резком подщелочении среды. Вышеизложенное позволяет предположить, что появление землистого запаха в растворе связано не только с нарушением структуры пленки, но и с выделением в раствор веществ слизистого характера, которые не только повышают окисляемость раствора, но и способствуют появлению и накоплению в нем землистого запаха.

При прочих равных условиях большое значение имеет температура. Так, из ряда наблюдений нами было установлено, что Os. splendida лучше развивается при температуре 24—25°. При более низкой температуре 16—19° и ниже она растет медленнее.

Опыт, поставленный с замораживанием пленки Os. splendida показал, что после оттаивания пленка имела зеленый цвет, но ее нити имели вид четок, которые затем распались на мелкие гормогонии и образовали густую взвесь в воде. Вода имела землистый запах.

Опыты с Os. agardhii. Изучение режима питания

Аналогичные наблюдения были проведены также и с Os. agardhii, которая принадлежит к организмам, живущим в более чистых водах, и поэтому требования ее к питанию совершенно другие. Из ряда опытов, поставленных в различное время года, удалось установить, что Os. agardhii лучше всего развивается на питательном растворе № 3 с 0,8 и 2,5 мг/л нитратного азота + 1,5 мг/л окисного железа (что совпадает с данными Гусевой [6, 7]). Опыты поставленные в то же время на питательном растворе № 3 с 4,8 и 17 мг/л нитратного азота, показали, что Os. agardhii на этих растворах почти совсем не растет. Водоросли лежат в виде кожистой пленки буроливкового цвета на дне колбы. Под микроскопом было найдено, что нити вполне жизненны, имеют интенсивно зеленый цвет и хорошо двигаются, только сильно укорочены. Из ряда опытов было выяснено, что Os. agardhii на минерально питательных растворах лучше растет при более низкой температуре (10—14°), так как при этой температуре окисное железо лучше удерживается в растворе. Os. agardhii выделяет запах прелых овощей или острый травяной запах при насту-

лении неблагоприятных условий в среде (подщелочение, отсутствие окисного железа и азота). Запах прелых овощей (2—3 балла и выше) наблюдается только в тех культурах, в которых водоросль сильно разрослась и накопилась большая пленка. Очень часто выделение запаха прелых овощей в растворе сопровождалось образованием гормогониев. Запах прелых овощей (выше 5 баллов) появлялся в культурах как Os. agardhii, так и Os. splendida при массовой гибели нитей и автолизе их. Полученные нами результаты вполне согласуются с данными Никитинского [9], Роберга (Roberg [14]) и Алеева [1; 2; 3]. Эти авторы считают, что обильное выделение водорослями органических соединений в окружающую среду является признаком автолиза и представляет собой паталогическое, а частью, быть может, посмертное явление.

Опыты по изучению влияния органического вещества

Для того чтобы более приблизиться к природным условиям, были поставлены опыты на водопроводной воде с различной окисляемостью.

Для получения различной окисляемости в водопроводную воду добавлялась почвенная вытяжка в разных количествах. Опыты были поставлены с тремя окисляемостями: 25; 15 и 9,6 мг/л O_2 и состояли из двух серий. Первая серия была поставлена для того, чтобы выяснить, как происходит рост и накопление запаха при развитии Os. splendida на одном растворенном органическом веществе, вторая серия была поставлена с добавлением к растворенному органическому веществу азота и фосфора в тех количествах, которые обычно вносятся для приготовления питательного раствора № 1, на котором Os. splendida хорошо растет.

Ряд опытов, проведенных с добавлением к растворенному органическому веществу только одного азота, показали, что рост Os. splendida увеличивается только в первое время роста (2—3 недели).

При хорошем росте нитратный азот используется, и пленка приобретает желтый цвет, перестает расти и сильно уплотняется. Для поддержания дальнейшего роста и накопления большой пленки требуется вносить нитратный азот по 20 мг/л через каждые 12 дней. В данном опыте всего нитратного азота было внесено 60 мг/л. Результаты опыта, сведенные в табл. 2, дают представление о росте Os. splendida на рассеянном свете (северное окно), при колебании температуры 18—23°, а также на искусственном освещении при температуре (23—28°).

Из этих двух опытов на основании полученных данных можно было сделать следующие выводы:

1. Рост Os. splendida происходит значительно лучше в культурах с большим содержанием органического вещества.

2. Ясная стимуляция роста наблюдается при добавлении к растворенному органическому веществу азота и фосфора в тех количествах, при которых Os. splendida хорошо растет на минеральных питательных растворах. При регулярном внесении азота рост пленки Os. splendida увеличился в 3—4 раза по сравнению с ее ростом в присутствии только одного органического вещества.

3. Цифровые данные, полученные по росту Os. splendida при искусственном освещении, позволяют заключить, что она растет лучше при более ярком освещении в присутствии одного органического вещества.

Таким образом, как данный опыт, так и предыдущие опыты на растворах с различным содержанием органических веществ с добавлением фосфора и азота указывают, что прирост Os. splendida главным образом происходит за счет потребления нитратного азота. Растворенное органическое вещество способствует росту осциллятории, как хорошо забуференная среда, из которой она использует только небольшую часть, доступную ей для усвоения, что подтверждается приведенными цифрами окисляемости в табл. 2.

Таблица 2

Влияние содержания органического вещества, фосфора и азота в растворе на рост Os. splendida при разных условиях освещения

(Начало опыта 19/IV, конец—19/VI)

Состав растворов		Естественное освещение; 20—26°						Искусственное освещение; 50 свечей на расстояние 50 см; 25—28°					
окисленность в мг/л O_2	добавление P + N	частота появления запаха	запах в баллах	вес сухого вещества в г	Окисляемость в мг/л O_2 через 1 мес.	Окисляемость в мг/л O_2 через 2 мес.	нитратный азот в конце опыта в мг/л	частота появления запаха	запах в баллах	вес сухого вещества в г	окисляемость в мг/л O_2 через 1 мес.	окисляемость в мг/л O_2 через 2 мес.	нитратный азот через 2 месяца в мг/л
25	Без P + N	6	2—3	0,0434	18,62	16,32	0	7	2—3	0,056 0,054	16,9	18,2	0
15	Без P + N	6	2	0,0340	13,96	12,8	0	7	2—3	0,046 0,047	8,5	11,84	0
9,6	Без P + N	4	Еле заметный	0,017	7,6	6,8	0	9	2—3	0,036 0,034	6,70	8,96	0
25	СР—5,5 мг; N—20 мг	7	2—3	0,1400	18,0	20,0	15	6	3	0,1380 0,1395	20,0	23	12
15	СР—5,5 мг; N—20 мг	6	2—3	0,1350	12,9	11,8	17	6	2—3	0,1360 0,1325	15,0	19	12
9,6	СР—5,5 мг; N—20 мг	2	1—2	0,0990	7,63	8,9	18	4	2—3	0,1060 0,1100	6,0	11	15

При регулярном внесении азота, а иногда фосфора землистый запах в культурах Os. splendida может не появляться длительное время, а при появлении сила его не превышает 2—3 баллов.

Кроме запаха, при потреблении воды имеет большое значение ее привкус. Проба воды на привкус обычно бралась при окончании опыта. Было найдено, что растворы в культурах после роста Os. splendida как на минеральных питательных средах, так и с добавлением почвенной вытяжки приобретают ясный неприятный привкус, который долго удерживается во рту. Этот привкус значительно усиливается при подогревании воды. Привкус ощущается значительно больше в тех культурах, в которых Os. splendida долго росла, сильно разрослась и уже начала гибнуть.

Опыты по изучению органического вещества с Os. agardhii

Для выяснения влияния органического вещества на рост и образование запаха в растворе при развитии Os. agardhii был поставлен ряд опытов. Привожу данные одного из опытов, поставленного при двух окисляемостях: 44 мг/л O_2 и 22 мг/л O_2 без добавки питательных солей и с внесением азота, фосфора и железа. В этом опыте рост Os. agardhii протекал при высокой температуре. В течение первого месяца температура в среднем была 30—32°, а во втором 25—28°. Таким образом, рост ее происходил при неблагоприятных условиях. Данные опыта сведены в табл. 3.

Из приведенной таблицы видно, что рост Os. agardhii на одном органическом веществе идет очень слабо. Внесение питательных солей, особенно увеличение дозы азота, значительно повышает ее рост, независимо от температуры. Прирост увеличивается в 4—6 раз, в зависимости от количества заданного азота.

Из ряда опытов можно было заключить, что Os. agardhii в присутствии растворенного органического вещества хорошо растет потому, что не испытывает резкого недостатка железа, так как последнее в присут-

Таблица 3

Влияние органического вещества на рост, образование запаха в растворах при развитии Os. agardhii

(Начало опыта 20/VII, конец 20/IX)

Питательные растворы			Частота появления запаха	Запах в баллах	Всего сухого вещества в г	Окисляемость мг/л O_2 через		Нитратный азот через 2 месяца в мг/л
окисленность в мг/л	P в мг/л	N в мг/л				1 мес.	2 мес.	
44	1,1	—	8	2—4	0,0288 0,0298	32,3	35 32,96	—
44	1,1	2,4	4	2—3	0,0918 0,0896	31	46 42	0
44	1,1	17,0	9	2—3	0,1372 0,1410	36,4	32 31,6	Следы
22	1,1	—	5	1—2	0,0126 0,0132	16	17,5 17,1	—
22	1,1	2,4	7	1—2	0,0896 0,0752	17,2	21 20,8	0
22	1,1	17,0	8	2—3	0,1258 0,1092	19,2	25 24,3	Следы

ствии органического вещества переходит в комплексное состояние, которое предохраняет его от выпадения. Поэтому железолюбивая Os. agardhii, имея его всегда в растворе, энергично растет, потребляя азот. В минеральных растворах, как известно, окисное железо быстро выпадает, и поэтому избыток азота не может быть ею использован и она перестает расти. В описанном опыте запах (острый, травяной или прелых овощей) начал появляться уже через 2 недели и держался долгое время. Запах ослабевал или исчезал совсем, когда культура начинала снова оправляться, что обычно бывало через 2—3 дня после внесения азота и железа. При росте Os. agardhii на минеральных средах, даже при ясно ощутимом запахе, привкус воды был, но он был иного характера и менее ощущался на вкус, чем в культурах с Os. splendida.

Все вышеописанные опыты показали, что при своем росте осциллятории как на чисто минеральных растворах, так и на растворах с добавлением почвенной вытяжки периодически выделяют тот или иной запах, сила которого то увеличивается, то уменьшается. Растворы же, в которых росли пленки осцилляторий, приобретают неприятный привкус. Описание опытов по образованию и накоплению запахов и привкусов в воде во время роста осцилляторий на грунтах приводится во втором сообщении этой работы.

Выводы

1. Выделение запахов в воде при развитии в ней осцилляторий связано с изменением режима питания и с особенностями обмена на разных этапах развития организмов: а) Выделение землистого запаха при развитии Os. splendida на искусственных средах происходит при длительном голодании или же при резком изменении режима питания. Запах в 5 баллов и выше происходит благодаря массовому отмиранию нитей и автолизу их, что сопровождается помутнением раствора из-за обильно выделившихся веществ слизистого характера, а также резким повышением окисляемости. б) Землистый запах в 5 баллов и выше появляется также при нарушении структуры пленки, как-то: при разрыве пленки на мелкие кусочки, при высушивании, а также при замерзании ее. в) Запах в

1—2 балла появляется периодически и связан с появлением густой взвеси из гормогониев. Последние появляются при наступлении неблагоприятных условий в среде (подщелочение, недостаток азота и окисного железа).

2. Os. agardhii при наступлении неблагоприятных условий в среде (подщелочение, голодание, высокая температура) выделяет в раствор запах прелых овощей или острый травянистый запах, который может длительно держаться в воде.

3. Os. splendida и Os. agardhii в присутствии одного растворенного органического вещества (почвенная вытяжка) растет лучше в культурах с бо́льшим содержанием органического вещества и хуже с меньшим содержанием его, что подтверждено весовыми данными.

4. Наблюдается ясная стимуляция роста Os. splendida и Os. agardhii при добавлении к растворенному органическому веществу фосфора и азота в тех количествах, при которых осциллятории хорошо развиваются. Рост Os. splendida при регулярном внесении нитратного азота возрастает в 3—4 раза, а Os. agardhii в 4—6 раз по сравнению с ростом их в присутствии только одного органического вещества.

Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова
Биолого-почвенный
научно-исследовательский институт

Получено 2.XII.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алеев Б. С. Выделение водорослями органических веществ в окружающую среду. Тр. Всес. н.-иссл. ин-та водоснабжения, вып. 7, 1933.
2. Алеев Б. С. Выделение водорослями органических веществ в окружающую среду. Микробиология, **III**, вып. 4, 1934.
3. Алеев Б. С. Автолиз у водорослей. Биохимия, **I**, вып. 1, 1936.
4. Горюнова С. В. Прижизненное выделение растительных кислот в окружающую водную среду синезеленою водорослью. ДАН СССР, **60**, вып. 8, 1948.
5. Горюнова С. В. Химический состав и прижизненные выделения синезеленой водоросли. Изд. АН СССР, 1950.
6. Гусева К. А. Цветение Учинского водохранилища Бюлл: об-ва испыт. природы, отд. биологии, **58**, вып. 4, 1939.
7. Гусева К. А. Цветение воды, его причины, прогноз и меры борьбы с ними. Тр. Всес. гидробиол. об-ва. IV. Изд. АН СССР, 1952.
8. Еленкин А. А. Синезеленые водоросли СССР. Монография пресноводных и наземных Cyanophyceae, обнаруженных в пределах СССР. Изд. АН СССР, М.— Л., 1936.
9. Никитинский Я. Я. Stigeoclonium tenue Kg. Физиология, морфология, экология. Тр. ин-та сооружений, вып. 4, 1930. Изд. НТУ ВСНХ СССР.
10. Успенский Е. Е. Нормальная питательная среда для водорослей и воспроизведение естественных вод. Дневник Всес. съезда ботаников стр. 175. 1926.
11. Успенский Е. Е. Превращение одних наследственных форм в другие и возникновение новых в роде Spirogyra. Микробиология, **III**, вып. 2 и 4, 1934.
12. Успенская В. И. Физиология питания и развития Stigeoclonium tenue Klebsi Микробиология. **V**, вып. 1 и 3, 1936.
13. Beneckе W. Über Kulturbedingungen einigen Algen. Bot. Z., **56**, 83, 1898.
14. Roberg D. M. Ein Beitrag zur Stoffwechselphysiologie der Grünalgen. Jahrb. Wiss. Bott. **72**, 369. 1930.

ЛЮМИНЕСЦЕНТНО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ НАД ОБРАЗОВАНИЕМ И ВЫДЕЛЕНИЕМ РИБОФЛАВИНА МИКРОСКОПИЧЕСКИМ ГРИБОМ EREMOTHECIUM ASHBYII

Э. М. Диканская

Метод люминесцентной микроскопии находит в настоящее время все более широкое применение в микробиологии. Так как подавляющее число микроорганизмов не обладает собственной резко выраженной люминесценцией, то чаще всего используют обработку микробов люминесцирующими веществами, так называемыми флюорохромами. Гораздо реже удается исследовать процессы и оценить состояние микробов, учитывая вырабатываемые ими естественно люминесцирующие вещества. Когда какой-либо гриб или бактерия образуют соединение, способное светиться, то при помощи люминесцентного метода можно наблюдать за возникновением этого вещества и его поведением в живой клетке (Мейсель [3, 4]). К такого рода веществам относятся некоторые сложные органические соединения и витамины, в том числе рибофлавин (витамин B_2), люминесцирующий зеленым светом при освещении его синими или ультрафиолетовыми лучами. Микроскопический гриб Eremothecium ashbyii, с которым проводилась настоящая работа, образует значительное количество рибофлавина и является поэтому весьма удобным объектом для люминесцентных наблюдений. Рибофлавин, как показал Гильермон (Guilliermond [9]), частично выделяется грибом в среду, частично скапливается в вакуолях мицелия в растворенном состоянии или в виде желтых кристаллов, хорошо видимых при обычной микроскопии. Однако в белом свете удается различить только значительные концентрации витамина и нет возможности наблюдать за ранними стадиями его образования в мицелии гриба, между тем люминесцентный микроскоп открывает ничтожные следы рибофлавина и, таким образом, облегчает разрешение вопроса о поведении этого витамина в микробной клетке. E. ashbyii благодаря резко повышенному образованию рибофлавина представляет специальный теоретический и практический интерес (Диканская, [1]) и привлекает к себе внимание многочисленных исследователей. Однако литературные данные, касающиеся детальных люминесцентно-микроскопических наблюдений над этим грибом, насколько нам известно, отсутствуют, и вообще насчитываются только единичные работы, связанные с микроскопическим анализом люминесценции рибофлавина в живой клетке (Рохлина [7], Шопфер, Schopfer, [10]). Между тем такие исследования имеют большое значение как для выяснения биологических закономерностей образования рибофлавина, так и для практического овладения процессом биосинтеза этого витамина микроорганизмами.

Мы работали с двумя штаммами E. ashbyii. Один штамм синтезировал большое количество рибофлавина, другой — был в этом отношении сравнительно менее активен, т. е. образовывал значительно меньше витамина. Изучались культуры гриба различного возраста в связи с разными фазами развития и образования рибофлавина, причем параллельно люминесцентному анализу проводились сравнительные наблюдения в белом свете при помощи обычного и фазово-контрастного микроскопов. Люминесценция гриба исследовалась как в ультрафиолетовых, так и в синих лучах; в последнем случае засвечивание поля зрения синим светом устра-

нялось желтым светофильтром, помещенным на окуляр микроскопа (Замков [2]).

Проведенные сравнительные наблюдения над двумя штаммами показали, что при помощи люминесцентного метода уже в первые сутки можно обнаружить различие в образовании рибофлавина в мицелии обоих штаммов. В то время как у активного штамма светится часть гифов (уже содержащих рибофлавин), весь мицелий неактивного штамма продолжает оставаться темным. В обычный микроскоп в это время даже в клетках активного штамма рибофлавин не улавливается. В дальнейшем, однако, часть гифов неактивной культуры тоже начинает светиться, но люминесценция всегда менее интенсивна и наблюдается в значительно меньшей части мицелия, чем у штамма, энергично образующего витамин. В старых культурах, когда в мицелии активного штамма еще сохраняется много светящихся гифов, в препарате неактивной культуры люминесценция почти нацело исчезает. Из этих наблюдений можно заключить, что только незначительная часть клеток мицелия неактивных культур обладает способностью к интенсивному образованию витамина; большее же число гифов синтезирует витамин в незначительном количестве или совсем его не образует. От этого и зависит общий пониженный выход рибофлавина в неактивных культурах. Возможность при помощи люминесцентного метода отобрать уже на ранних стадиях развития активные в отношении образования рибофлавина и неактивные культуры должна облегчить селекционную работу с этим грибом.

До настоящего времени рибофлавин удавалось наблюдать только в вакуолях гриба (Guilliermond [9]); однако вряд ли вакуоли могут быть местом его образования. Скорее всего, в вакуолях происходит лишь накопление витамина перед выделением из клетки. Люминесцентный анализ позволил подтвердить это предположение. При тщательных наблюдениях над культурами раннего возраста в молодых маловакуолизированных клетках отмечается легкое, типичное для рибофлавина, диффузное свечение плазмы, которое вскоре при развитии вакуолярной системы исчезает. Начиная с этого времени, люминесценцию удается наблюдать лишь в вакуолях. То, что рибофлавин обнаруживается в цитоплазме только на самых ранних этапах развития, можно объяснить следующим образом. Безусловно, в плазме гриба все время должно находиться некоторое количество рибофлавина, необходимое для осуществления текущих физиологических функций. Но в связанном состоянии рибофлавин, как известно, не люминесцирует. Свободный же витамин в больших концентрациях, ненужный или даже, возможно, токсичный для клетки, не накапливается в ней, а выделяется в вакуоли (такой путь был показан для многих искусственно вводимых красок). В цитоплазме свободный рибофлавин в уловимых при помощи люминесцентного микроскопа количествах находится, очевидно, только в молодой клетке с недостаточно развитой вакуолярной системой. В дальнейшем витамин по мере его синтеза поступает в вакуоль, не задерживаясь в свободном состоянии в плазме. Можно также предположить, что незначительные концентрации свободного рибофлавина все время, пока идет синтез этого витамина, имеются в цитоплазме, но более сильное свечение вакуолей мешает обнаружению слабой люминесценции плазмы.

На третьи-четвертые сутки культивирования гриба вакуоли почти всех клеток мицелия активного штамма люминесцируют зеленым светом. На общем светящемся фоне выделяются отчетливо темные спорангии и споры, которые, как указывал и Гильермон [9], никогда не образуют и не содержат свободного рибофлавина. В светящихся вакуолях можно наблюдать более яркие и темные включения. В белом свете видно, что и те и другие представляют собой кристаллы. Так как кристаллический рибофлавин интенсивно люминесцирует, то, видимо, наряду с этим витамином (ярко светящиеся включения) в вакуолях кристаллизуется какое-

то другое вещество, возможно, дериват рибофлавина. В старых культурах число гифов с кристаллами витамина снижается и уменьшается общее число светящихся клеток. В это же время уже отмечается появление лизирующихся гифов. Клетки с типичными литическими изменениями никогда не люминесцируют, т. е. не содержат рибофлавина. Однако многие гифы, также потерявшие люминесценцию, не обнаруживают даже при наблюдении в фазово-контрастный микроскоп, морфологически выраженных дегенеративных изменений. Очевидно, старые части мицелия на определенном этапе развития перестают накапливать рибофлавин и освобождаются от уже имевшегося в вакуолях витамина. При удалении из клетки рибофлавин не разрушается, а выделяется в среду. Экскреция витамина в культуральную жидкость начинается еще на ранних стадиях развития и происходит все время, пока витамин синтезируется в мицелии. Однако в тот период, когда большое число старых или лизирующихся клеток теряет люминесценцию, культуральная среда особенно обогащается рибофлавином. При помощи люминесцентного микроскопа нам удалось наблюдать непосредственно процесс экскреции витамина. В поле зрения микроскопа была отмечена отдельно лежащая гифа с отчетливо очерченной вакуолью, хорошо выделявшейся на общем темном фоне. Внезапно границы вакуоли исчезли и на этом месте появилось расплывчатое люминесцирующее пятно; через мгновение окружающая среда начала светиться, а вакуоль стала такой же темной, как и протоплазма.

Таким образом, изложенные выше наблюдения над первичной люминесценцией гриба E. ashbyii позволили проследить образование и передвижение рибофлавина непосредственно в живой клетке гриба, начиная с самых ранних стадий его появления. При этом удалось выяснить, что витамин начинает образовываться в молодых гифах, а не только в гифах, уже окончивших свое развитие, как считал Гильермон [9], причем местом синтеза витамина является протоплазма клетки. Свободный рибофлавин выделяется в вакуоли, накапливается там в значительных концентрациях и уже из вакуолей выводится в среду.

Помимо изучения первичной люминесценции рибофлавина в клетках E. ashbyii, была использована также прижизненная обработка мицелия гриба некоторыми флюорохромами. Применение этих светящихся соединений позволяет проводить исследования, почти не повреждая живую клетку, так как флюорохромы употребляются в ничтожных концентрациях, благодаря этому имеет ряд преимуществ перед обычным витальным окрашиванием. Обработанные флюорохромами микроорганизмы могут даже размножаться (Мейсель, Помощникова и Шавловский [6]). Кроме того, один и тот же флюорохром обладает способностью «окрашивать» разные клеточные структуры в разные цвета, в зависимости от их химического состава (Мейсель [4]). К сожалению, по отношению к E. ashbyii применение метода флюорохромирования оказалось ограниченным вследствие сильного собственного свечения рибофлавина в мицелии гриба. Из множества испытанных флюорохромов только акридин оранжевый дал дифференцированную окраску, которая не засвечивалась рибофлавином. Обработка гриба проводилась так: к хорошо отмытому мицелию, суспендированному в фосфатном буфере (общий объем 5 мл), добавлялось 0,02 мл 1/1000 раствора флюорохрома и через сутки проводились наблюдения в люминесцентном микроскопе, Акридин оранжевый позволяет на фоне светящейся зеленым светом протоплазмы различить в живой клетке гриба желтоватые ядра и ярко красные зерна волютина в вакуолях мицелия и спор. Идентификация этих включений была проведена на дрожжевых клетках в работах Мейселя и его сотрудников [6]. Характер и расположение красных включений в мицелии полностью соответствуют волютину, выявляемому при помощи прижизненной окраски нейтральным красным. Люминесцентно-микроскопический анализ подтвердил наши наблюдения, проведенные на окра-

шенных прижизненно нейтральным красным и обработанных по Мейеру препаратах, о том, что активный в отношении синтеза рибофлавина штамм гриба содержит больше волютина, чем неактивный.

Благодаря применению некоторых других флюорохромов удалось дифференцировать живые и мертвые участки в мицелии E. ashbyii. Флюорохромы — примулин, родамин и тиазин красный — придавали каждый мицелию гриба два оттенка свечения. Различная люминесценция живых и мертвых клеток пыльной головни при обработке флюорохромами была отмечена еще Яблоковой [8]. Для распознавания живых и мертвых клеток в бактериальных культурах Штруггер (Strugges [11]) предложил обработку бактериальных суспензий акридином оранжевым, который «окрашивает» клетки в зависимости от их состояния в зеленый или красный цвета. Однако метод Штруггера в целом ряде случаев оказался недостоверным и был подвергнут серьезной критике. Применение для этой цели кислых флюорохромов, например примулина, как показали Мейсель и Медведева [5], значительно перспективнее.

В наших опытах с E. ashbyii оказалось, что при обработке тиазином красным мицелий гриба светится диффузно красным и фиолетовым светом, при обработке примулином — ярко голубым и желтоватым, а родамином — оранжевым и желтым. Обработка флюорохромами проводилась так: мицелий отмывался от культуральной среды и к 5 мл водной суспензии добавлялась 0,03 мл 1/1000 раствора флюорохрома; препараты просматривались через 2 и через 24 часа. Изучение культур гриба разного возраста и культур, убитых прогревом, показало, что двухцветность свечения зависит от наличия живых и мертвых гифов в мицелии. Так, например, после прогрева весь мицелий гриба люминесцирует одним цветом: при обработке тиазином — красным, родамином — оранжевым и примулином — яркоголубым. В старых культурах увеличивается соответственно число красных, оранжевых и ярко голубых клеток. Таким образом, можно было заключить, что этими цветами светятся, очевидно, мертвые или отмирающие клетки, живые же части мицелия люминесцируют фиолетовым (в случае тиазина красного) и желтоватыми (в случае родамина и примулина) тонами. Интересно, что уже на третьи-четвертые сутки культивирования в мицелии гриба наблюдалось при помощи этого метода значительное число нежизнеспособных гифов и, с другой стороны, даже в очень старых культурах обнаруживались живые клетки. Эти данные подтверждаются результатами, полученными при исследованиях с фазово-контрастным микроскопом, и характером изменения веса мицелия в течение культивирования.

Возможность простого различения живых и мертвых клеток интересна не только с точки зрения осуществления контроля над состоянием культур E. ashbyii, но и весьма перспективна для решения ряда вопросов, связанных с физиологией развития, образованием и накоплением больших количеств рибофлавина в клетках гриба и поэтому безусловно требует дальнейшей экспериментальной разработки.

Настоящая работа выполнена под руководством проф. М. Н. Мейселя, которому автор выражает глубокую благодарность.

Выводы

Полученные данные позволяют заключить, что метод люминесцентной микроскопии в применении к грибу Eremothecium ashbyii может с успехом быть использован для решения целого ряда вопросов, связанных с биосинтезом рибофлавина.

Собственное свечение этого витамина дало возможность исследовать процесс его образования и дальнейшую судьбу непосредственно в живом организме.

Обработка гриба флюорохромом акридином оранжевым позволила

выявить в живой клетке ядра и волютин, а использование флюорохромов — родамина, примулина и тиазина красного — дало возможность различать мертвые и живые клетки в мицелии E. ashbyii.

Институт микробиологии Академии наук СССР
Москва

Получено 10.VII.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Диканская Э. М. Образование рибофлавина микроорганизмами. Микробиология, XIX вып. 3, 1950.
2. Замков Б. А. Простое приспособление для флюоресцентной микроскопии. Микробиология, XVII, 400, 1948.
3. Мейсель М. Н. Применение люминесцентной микроскопии в биологии. Изв. АН СССР. серия физич., 13, вып. 2, 1929.
4. Мейсель М. Н. Функциональная морфология дрожжевых организмов. Изд-во АН СССР, 1950.
5. Мейсель М. Н. и Медведева Г. А. Проблема люминесцентно-микроскопического исследования в микробиологии. Вестник АН СССР, 9, 87, 1951.
6. Мейсель М. Н., Помощникова Н. А., Шавловский Ю. М. Угнетение дыхательной активности клеток при избирательном блокировании хондриосом. ДАН СССР, LXX, 1065, 1950.
7. Рохлина М. Л. и Петровская О. А. Витамины и гистофизиология органов. Труды 5-го Всесоюзного съезда гистологов и эмбриологов, Л. 1949.
8. Яблокова В. Отношение к ультра-фиолетовым лучам мицелия пыльной головни в зерне пшеницы в зависимости от состояния мицелия. ДАН СССР, 23. 392. 1939.
9. Guilliermond A. L'Eremothecium ashbyii, nouveau champignon parasite des capsules du cotonnier. Rev. mycologique, 1, p. 115, 1936.
10. Schopfer W. H. Recherches cytologiques sur la vitamine de croissance B_2 et ses dérivés lumiflavine et lumichrome C. R. séances Soc. Phys. et Hist. naturelle, 58, N 2, 1941.
11. Strugger S. Fluorescentmicroscopie und Mikrobiologie. Gannover, 1949.

О РЕАКЦИИ КАРБОКСИЛИРОВАНИЯ ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ ДРОЖЖАМИ

А. К. Родопуло

Известно, что превращения пировиноградной кислоты в растительных и животных тканях протекают по нескольким направлениям. Давно была найдена у дрожжей декарбоксилаза, которая декарбоксилирует пировиноградную кислоту в уксусный альдегид. Пировиноградная кислота также прямо окисляется в уксусную кислоту путем окислительного декарбоксилирования. Она может восстанавливаться в молочную кислоту, как это протекает в мышцах. Кроме того, процесс постепенного окисления пировиноградной кислоты в растительных и животных тканях может идти через органические дикарбоновые кислоты с 4 и 6 углеродными атомами.

Так, например, Михлин и Бах [4] впервые показали, что при введении пировиноградной кислоты одновременно со щавелевоуксусной или яблочной кислотой в листьях табака образуется лимонная кислота. Кребс (Krebs [5]), Кребс и Джонсон (Krebs a. Jonson [6]) также установили, что в животных тканях пировиноградная кислота взаимодействует со щавелевоуксусной и образует лимонную кислоту.

За последнее время было также установлено, что некоторые микроорганизмы способны карбоксилировать пировиноградную кислоту и образовывать щавелевоуксусную кислоту.

Возможность ассимиляции углекислоты микроорганизмами впервые была показана видным советским биохимиком Лебедевым [3]. К сожалению, этому выдающемуся открытию ранее не было уделено должного внимания и только в последнее время этот вопрос стал усиленно разрабатываться.

Буткевич [1] на основании изучения превращения сахара в лимонную кислоту плесневыми грибами пришел к заключению, что все атомы углерода сахара полностью входят в состав лимонной кислоты. Однако теперь можно с уверенностью утверждать, что предположение Буткевича было неправильно, так как часть углекислоты в его опытах могла быть ассимилирована плесневыми грибами из воздуха.

Вуд (Wood [10]) и Веркман (Werkman [9]) предложили следующую реакцию ассимиляции углекислоты пропионовокислыми бактериями:

$$CO_2 + CH_3 — CO — COOH \rightleftarrows HOOC — CH_2 = CO — COOH$$

Экспериментально эта реакция была доказана Колтенбахом и Кальницким (Koltenbach u. Kalnitski [7]) с экстрактами Proteus morganii.

Что касается карбоксилирования пировиноградной кислоты дрожжевыми клетками и образования вначале щавелевоуксусной, а затем лимонной кислот, то это не было, насколько нам известно, подтверждено экспериментально.

В настоящей работе была поставлена задача проследить образование щавелевоуксусной и лимонной кислот из пировиноградной в дрожжах. Применявшаяся нами методика состояла в следующем: трехдневные культуры винных дрожжей (Sacch. ellipsoideus), Кахури 4, Штейнберг 1892 г. и дрожжи Sacch. cerevisiae раса XII отделялись от сусла центрифугированием. Затем дрожжи промывались три-четыре раза стерильной

водой для удаления продуктов брожения. Промытые таким образом дрожжи делились на две части. Одна часть суспендировалась в бикарбонатном буфере при pH = 6,2, и после тщательного перемешивания суспензия дрожжей вносилась в стерильные колбочки, куда была добавлена натриевая соль пировиноградной кислоты. Аналогичные опыты мы ставили с солями малоновой кислоты.

Вторую половину дрожжей мы повторно замораживали жидким азотом для извлечения энзимов из клеток. После замораживания экстракт дрожжей фильтровался через мелкопористый фильтр и фильтрат, содержащий энзимы, вносился в колбочки с натриевыми солями пировиноградной кислоты. Колбы ставились в термостат при 30° и через каждые сутки бралось по 2 мл жидкости для определения лимонной кислоты. Определение лимонной кислоты проводилось по методу Кометиани [2] в модификации Нательсона (Natelson [8]). Этот метод отличается большой чувствительностью, точностью и специфичностью. Помимо микрохимического метода, лимонную кислоту дополнительно определяли методом распределительной хроматографии на бумаге.

Исследования показали, что образование лимонной кислоты из пировиноградной в экстракте из дрожжей наблюдается через 12 часов, в то время как с неповрежденными дрожжевыми клетками образование лимонной кислоты имело место через 24 часа. Максимальное накопление лимонной кислоты наблюдалось через двое-трое суток, а затем количество лимонной кислоты падало.

Так как результаты получились почти одинаковые с различными видами и расами дрожжей, то мы в табл. 1 приводим данные одного из опытов.

Таблица 1

Синтез лимонной кислоты из пировиноградной дрожжами

Состав смеси	Лимонная кислота в 2 мл жидкости в мг
Дрожжи Кахури 4 + бикарбонатный буфер pH = 6,2	0,00
То же + натрий пировиноградноокислый в концентрации 0,08 моля pH = 6,2	0,96
То же + натрий пировиноградноокислый в концентрации 0,08 моля и + натрий малоновокислый в концентрации 0,05 моля pH = 5,0	1,35
То же + натрий малоновокислый в концентрации 0,05 моля pH = 6,2	0,00
Экстракт из дрожжей Кахури 4 + бикарбонатный буфер pH = 6,2	0,00
То же + натрий пировиноградноокислый в концентрации 0,08 моля pH = 6,2	0,68
То же + натрий пировиноградноокислый в концентрации 0,08 моля и + натрий малоновокислый в концентрации 0,05 моля pH = 5,0	0,98
То же + натрий малоновокислый в концентрации 0,05 моля pH = 6,2	0,00

Приведенные в табл. 1 данные показывают, что дрожжи (пивные и винные), а также полученный путем замораживания экстракт из дрожжей способны синтезировать лимонную кислоту из пировиноградной. Интересно отметить, что малоновая кислота не только не тормозит образования лимонной кислоты, но, наоборот, способствует увеличению количества последней. Если бы лимонная кислота образовывалась через янтарную кислоту, т. е. путем окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты в уксусную с последующей ее конденсацией, то малоновая кислота должна была тормозить образование лимонной кислоты. Однако это в наших опытах не наблюдалось.

Следовательно, остается единственный путь образования лимонной кислоты через карбоксилирование пировиноградной кислоты. Если это так, то при инкубации пировиноградной кислоты с дрожжами должна образовываться щавелевоуксусная кислота, хотя она очень лабильное соединение и ее трудно открыть в биологических средах.

С этой целью проведен ряд опытов с дрожжами Sacch. ellipsoideus и Sacch. cerevisiae. К стерильным колбам с бикарбонатным буфером (100 мл) pH-6,8, натриевыми солями пировиноградной (0,1 м) и малоновой (0,05 м) кислот суспендировались дрожжи (20 г), промытые стерильной водой, и инкубировались при 30°. По истечении 24 часов колбы с содержимым быстро охлаждались до —2°, жидкость подкислялась несколькими каплями концентрированной серной кислоты и органические кислоты экстрагировались эфиром при 3—5°. Затем к эфирному экстракту добавляли 5 мл воды и эфир быстро отгоняли под вакуумом без нагревания при комнатной температуре. Водный экстракт мы испытывали на содержание в нем щавелевоуксусной кислоты по методу Колтенбаха и Кальницкого [7]. Метод основан на том, что соли Al^{+++} в лимоннокислом анилине декарбоксилируют только щавелевоуксусную кислоту, пировиноградная кислота при этих условиях не декарбоксилируется. Определение щавелевоуксусной кислоты проводили в респирометрах Варбурга и по количеству выделенного CO_2 вычисляли ее количества. 10 µл CO_2 соответствуют 57 µг щавелевоуксусной кислоты. В ряде проведенных определений мы находили от 130 до 150 µг щавелевоуксусной кислоты.

Исходя из полученных нами результатов, мы вправе предполагать, что щавелевоуксусная кислота образовалась путем карбоксилирования пировиноградной кислоты, так как малонат не тормозит образования щавелевоуксусной кислоты.

Нами изучалось влияние различных концентраций пировиноградной кислоты на количество образовавшейся лимонной кислоты (табл. 2).

Таблица 2

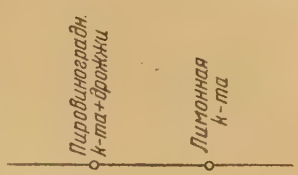
Влияние различных концентраций пировиноградной кислоты на продукцию лимонной кислоты у дрожжей

Пировиноградная кислота в молях	0,02	0,04	0,0[illegible]	,08	0,10	0,15
Количество образовавшейся лимонной кислоты в 2 мл жидкости в мг . .	0,25	0,60	0,85	1,10	1,12	1,125

Из табл. 2 видно, что количества образовавшейся лимонной кислоты вначале прямо пропорциональны концентрации внесенной в культуру дрожжей пировиноградной кислоты. Максимум образования лимонной кислоты наблюдается при концентрации 0,08 М пировиноградной кислоты. Дальнейшее повышение концентрации пировиноградной кислоты не сказывается на увеличение лимонной кислоты. Лимонная кислота также определялась методом хроматографии на бумаге. Исследуемую жидкость мы подвергли следующей обработке: 20 мл раствора подкисляли несколькими каплями концентрированной серной кислоты и помещали в стаканчик для экстракции серным эфиром в экстракторе (по Курсанову). Экстракцию органических кислот мы проводили в течение 48 часов. К эфирному экстракту добавляли 5 мл воды и эфир отгоняли. Водный раствор, содержащей органические кислоты, фильтровали через фильтровальную бумагу.

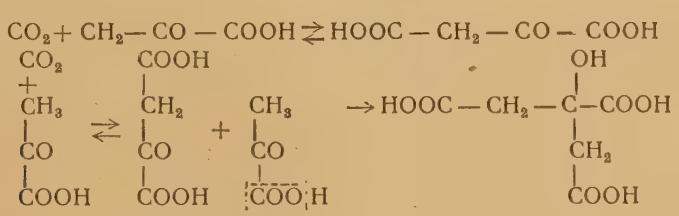
Для разделения органических кислот в полученном нами водном растворе мы применили метод хроматографии на бумаге. В качестве

растворителя мы применяли насыщенный водой *n*-бутиловый спирт в 5% муравьиной кислоте. Пятна исследуемых кислот проявлялись после опрыскивания бумаги 0,04%-ным водным раствором бромкрезолзеленой. Точность наших определений проверялась совпадением пятен кислот исследуемой нами жидкости с пятнами чистых растворов органических кислот, как показано на рисунке.



Как видно из рисунка, скорость движения органических кислот исследуемого раствора совпала со скоростью движения чистых растворов органических кислот (лимонной и пировиноградной). Положение на бумаге лимонной кислоты, образованной из пировиноградной кислоты при Rf = 0,34 (коэффициент скорости движения), совпало с Rf чистой лимонной кислоты.

Таким образом, методом хроматографии на бумаге можно наглядно показать образование лимонной кислоты из пировиноградной в культуре дрожжей. Эти результаты позволяют сделать заключение, что дрожжи содержат β-карбоксилазу, которая карбоксилирует пировиноградную кислоту в щавелевоуксусную. Последняя конденсируется с новой молекулой пировиноградной в момент ее окислительного декарбоксилирования и образуется лимонная кислота, согласно схеме:



Выводы

1. Sacch. ellipsoideus и Sacch. cerevisiae способны синтезировать лимонную кислоту из пировиноградной.

2. Малоновая кислота не задерживает образования лимонной кислоты из пировиноградной. Следовательно, лимонная кислота образуется через щавелевоуксусную кислоту, а не через янтарную кислоту.

3. Высказано предположение, что дрожжи содержат β-карбоксилазу, которая способна карбоксилировать пировиноградную кислоту в щавелевоуксусную. Щавелевоуксусная кислота конденсируется с пировиноградной кислотой в момент окислительного декарбоксилирования и образует лимонную кислоту.

Закавказский филиал
Всесоюзного научно-исследовательского
института
виноделия и виноградарства
«Магарач»
Тбилиси

Получено 3.X.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буткевич В. С. и Гаевская М. С. Выход лимонной кислоты из сахара, как основание для оценки схем ее образования из последнего, ДАН, новая серия, 3, № 9, 405, 1935.

2. Кометиани П. А. и Сторуа Г. Микроиодометрический метод определения лимонной кислоты. Сооб. АН Груз. ССР, 5, № 1, стр. 55—60, 1944.
3. Лебедев А. Н. Об ассимиляции углерода сапрофитами. Изв. Донского университета, кн. 1, стр. 29, 1921.
4. Михлин Д. М. и Бах А. Н. Биохимический синтез лимонной кислоты. Изв. АН, серия биол., стр. 991, 1938.
5. Krebs H. The intermediary stages in the biological oxidation of carbohydrate Adw. Enz., 3, 191, 1943.
6. Krebs H. and Jonson W. The role of citric acid in intermediate metabolism in animal tissues. Enz., 4, 148, 1937.
7. Koltenbach I. and Kalnitski G. The Enzymatic formation of oxalacetate from pyravate and carbondioxide. J. Biol. Chem., 192, 641, 1951.
8. Natelson S. Determination of microquantites of citric acid in biological fruids J. Biol. Chem., 170, 597, 1947.
9. Werkman C. and Wood H. Hetorotrophic. assimilation of Carbondioxide Adv. Enz., 2, 135, 1942.
10. Wood H. The fixation of carbon dioxide the interrelationships of the tricarboxilic acid cycle. Physiol. Rev., 26, 148. 1946.

О ФИЛЬТРУЮЩИХСЯ ФОРМАХ ЖЕЛТОЙ САРЦИНЫ

М. А. Купрейчик

Вопрос о фильтрующихся формах бактерий в настоящее время приобретает особый интерес в связи с целым рядом гипотез о взаимоотношении фильтрующихся форм бактерий с вирусами (Крестовникова [3], Фалькович [4], Бошьян [1] и др.). Гедли (Hadley [5]) связывал фильтрующиеся формы бактерий с так называемыми *G*-формами, которые он считал одной из стадий жизненного цикла бактерий. Изучение фильтрующихся форм, условий их появления необходимо для выяснения ряда вопросов онтогенеза бактерий, патогенеза инфекционных заболеваний, явлений иммунитета и т. д.

В отношении фильтрующихся патогенных бактерий накопился уже богатый материал. Данные о фильтрующихся формах сапрофитов весьма скудны. В связи с этим мы решили изучить вопрос об образовании фильтрующихся форм у одного из распространенных сапрофитов — желтой сарцины. В доступной нам литературе мы не нашли данных, касающихся образования желтой сарциной фильтрующихся форм.

Существуют две точки зрения на образование фильтрующихся форм. Одни авторы (Крестовникова, Калина [12], Бошьян и др.) считают их стадией развития микроба, другие — результатом адаптации микроба к неблагоприятным условиям среды; последнее выражается в том, что клеточная форма микроба переходит в мельчайшую невидимую форму живого вещества. Исходя из этой мысли, мы решили в качестве фактора, создающего неблагоприятные условия среды, применить растворы фенола в концентрации 0,1; 0,01; 0,001%. В пробирках с бульоном с прибавлением 0,1% фенола культура желтой сарцины роста не дала (3 дня в термостате и 6 дней при комнатной температуре). В пробирках с бульоном + 0,01% фенола в течение того же промежутка времени рост получился слабый; в пробирках с бульоном + 0,001% фенола рост был более обильный, но все же меньший, чем в контроле.

Были приготовлены мазки и окрашены метиленовой синькой. В мазках из культур с прибавлением 0,01% фенола были констатированы следующие формы: 1) кокки, не имеющие типичной формы сарцин, располагавшиеся по 1, 2, 3, 4 или небольшими скоплениями, причем по величине кокки были меньше кокков сарцин; 2) мелкие зерна также, располагавшиеся кучками или по 1, 2, 3, 4.

В мазках из пробирок с бульоном и с 0,001% фенола такая же картина, как и в мазках из пробирок с бульоном и с 0,01% фенола.

Из бульонных культур с добавлением 0,01% и 0,001% фенола были сделаны посевы на пластинку агара. Выросло: 1) колонии более мелкие, чем колонии сарцин, 2) карликовые колонии (через 5 суток — 1 сутки в термостате, 4 суток при комнатной температуре).

В мазках из более крупных колоний были видны мелкие кокки, располагавшиеся по 1, 2, и 4 и небольшими кучками.

Посевы карликовых колоний на косой агар дали рост (2 дня в термостате и 5 дней при комнатной температуре), в виде отдельных мельчайших колоний; более крупные колонии дали сплошной рост уже через сутки.

При дальнейших пересевах более крупных колоний на косой агар постепенно восстанавливалась прежняя форма сарцин. При микроскопическом исследовании мазков с косого агара все чаще и чаще встречались крупные кокки, складывавшиеся в виде сарцин.

Таким образом, измененные под влиянием раствора фенола сарцины постепенно приобретали первоначальный вид, хотя отдельные кокки, расположенные по 2—4 и мелкими скоплениями, встречались еще долго.

Что касается карликовых колоний, то потребовались многократные пассажи для того, чтобы получить постепенную реверсию в более крупные колонии из кокковых форм.

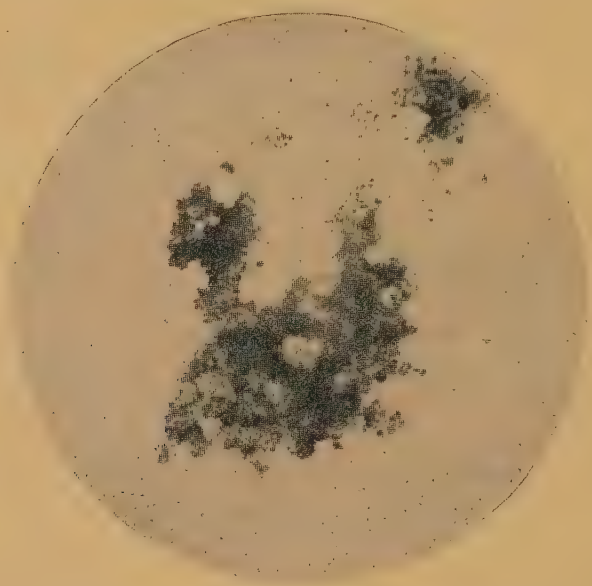


Рис. 1. Зернистые формы из материала, взятого со штриха на агаре с кровью, после 20-дневного роста фильтрата (II пассаж). Ув. × 1000

Для изучения образования фильтрующихся форм желтой сарцины мы профильтровали через фильтры Беркефельда (N) и Зейтца (применяемого для фильтраций бактериофага) культуру, которая росла на бульоне с 0,01% фенола в течение 10 дней (3 дня в термостате и 7 дней при комнатной температуре). Фильтрат через фильтр Беркефельда был посеян в 2 пробирки с бульоном, фильтрат через фильтр Зейтца был посеян на косой агар с 10% крови. После 10-дневной инкубации пробирок с бульоном (3 дня в термостате и 7 дней при комнатной температуре) в одной пробирке следов роста не было обнаружено, во второй пробирке был слабый рост по стенкам. В мазке из второй пробирки, окрашенном метиленовой синью, форменных элементов не было обнаружено; в мазке из первой пробирки были обнаружены мелкие слабо окрашенные зерна.

При микроскопическом исследовании пробирок с агаром и с кровью после 7-дневной инкубации (2 дня в термостате и 5 дней при комнатной температуре) каких-либо колоний обнаружено не было. Тогда мы платиновой петлей слегка провели вдоль штриха, приготовили мазок и окрасили метиленовой синькой. При микроскопическом исследовании мазка были обнаружены мелкие зерна; после этого петлей был сделан посев со штриха на косой агар с кровью (II пассаж) и на бульон.

Через 5 дней инкубации (2 дня в термостате и 3 дня при комнатной температуре) на бульоне роста обнаружено не было; на косом ага-

ре с кровью видимых колоний не было обнаружено, но в мазке из материала, взятого со штриха, были обнаружены мельчайшие зерна.

При взятии материала со штриха на косом агаре с кровью через 20 дней роста при комнатной температуре в мазке уже были видны крупные скопления мельчайших зерен (рис. 1).

Затем из пробирки агар + кровь (II пассаж) был сделан пересев материала, взятого со штриха в другую пробирку с агаром + кровь (III пассаж) и в пробирку с агаром без добавления крови. После 7-дневной инкубации (2 дня в термостате и 5 дней при комнатной температуре) на простом агаре роста обнаружено не было; также не

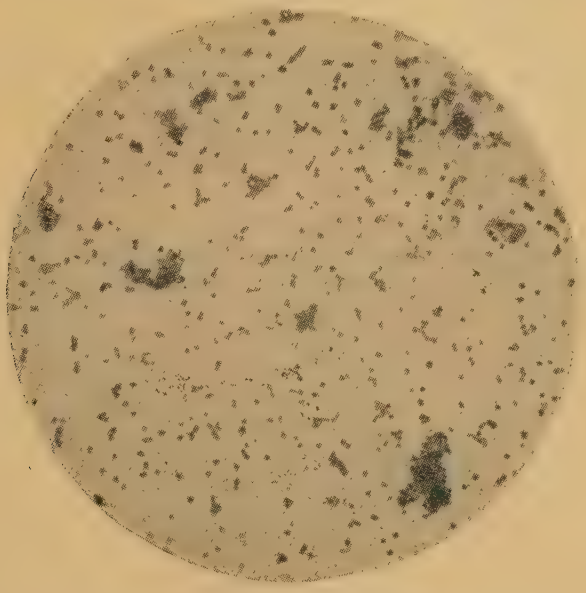


Рис. 2. Зернистые формы из мельчайших колоний, выросших на агаре с кровью, после 20-дневного роста (III пассаж). Ув. × 1000

было обнаружено зерен в мазках из штриха. В пробирке с агаром с кровью колоний обнаружено не было, но в мазках были обнаружены мелкие зерна. Лишь после 20-дневной инкубации при комнатной температуре на агаре с кровью по штриху развились отдельные мельчайшие колонии, при микроскопическом исследовании которых были обнаружены мелкие зерна, лежавшие группами (рис. 2).

При исследовании через полтора месяца пробирок с бульоном, в которые был посеян фильтрат, в них был обнаружен рост на дне в виде нежного небольшого осадка, состоящего из мелких зерен и мелких кокков. Типичных сарцин обнаружить не удалось.

Таким образом, при выдерживании желтой сарцины в бульоне с прибавлением 0,01—0,001% фенола в течение 7—10 дней культура не содержит типичных пакетов сарцин, а состоит из мелких кокков, складывающихся по 1, 2, 4 или неправильными кучками. Наряду с кокками в мазках из бульона видны также мельчайшие зерна, одиночные, складывающиеся по 2—4 или мелкими кучками. При высеве из бульона на пластинках агара вырастают микроколонии, состоящие из мелких кокков, также располагающихся неправильно, одиночно, по 2—4 или мелкими скоплениями.

Кроме мелких колоний на пластинках агара, через несколько суток при комнатной температуре появляются карликовые колонии, состоящие из мельчайших зерен.

При дальнейших пассажах на косом агаре постепенно из мелких колоний восстанавливаются типичные сарцины, то же самое получается и при пассажах карликовых колоний, но для этого требуется больше пассажей.

Бульонный фильтрат культуры желтой сарцины, с 0,01% фенола выдержанный в течение 7 дней (2 дня в термостате и 5 дней при комнатной температуре) на агаре с кровью, в первых пассажах не дает видимых колоний. По штриху можно обнаружить присутствие зерен, но, начиная с третьего пассажа, при выдерживании при комнатной температуре в течение 20 дней по штриху появляются немногочисленные мельчайшие колонии, тоже состоящие из зерен.

Таким образом, фильтрующиеся формы в процессе регенерации проходят через стадию зерен, а зерна переходят в кокки. Следовательно, в нашей работе находит подтверждение положение О. Б. Лепешинской, что из мельчайших частиц живой протоплазмы может регенерироваться клетка.

Выводы

1. Желтая сарцина при инкубации в течение 7—10 дней на бульоне с прибавлением 0,01%—0,001% фенола превращается в отдельные кокки и зерна, потерявшие типичное расположение сарцин. При высеве культуры на пластинку агара вырастают: 1) мелкие колонии, состоящие из мелких кокков, зерен и небольшого числа нетипичных пакетов мелких кокков, 2) карликовые колонии, состоящие из зерен, неправильно расположенных.

2. При фильтровании культуры желтой сарцины, которая росла на бульоне с 0,01% фенола через фильтры Беркефельда (N) и Зейтца с последующим посевом фильтрата на агар с кровью, на последнем вначале обнаруживается рост зерен без образования колоний, а начиная с третьего пассажа, после 20-дневной инкубации появляются мелкие колонии, состоящие из зерен.

3. После многократных пассажей карликовых колоний на питательные среды восстанавливаются первоначальные формы сарцин, причем для реверсии карликовых форм требуется большое число пассажей.

Иркутский государственный медицинский институт

Получено 30.X.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бошьян Г. М. О природе вирусов и микробов. М., 1949.
2. Калина Г. П. Изменчивость патогенных микробов. Киев, 1949.
3. Крестовникова В. А. К вопросу о взаимосвязи Х-протея и риккетсий Провачека. I. Журн. микроб. эпид. и иммуноб., № 4, 1947.
4. Фалькович Л. И., Воронкова О. И., Красильщик Р. Б. К вопросу об этиологии скарлатины. Труды конференции ин-тов эпид. и микроб. по проблеме изменчивости микробов. 1948, Горький, 1949.
5. Hadley Ph. Microbic dissotiation. J. Inf. Diseases, 40, I, 1927.

О СПОСОБАХ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ОКРАСКИ СПОРУЛИРУЮЩЕЙ КУЛЬТУРЫ ВИННЫХ ДРОЖЖЕЙ

В. В. Абрамович

Интенсивность процесса спорообразования у исследуемой культуры винных дрожжей количественно обычно выражается процентным соотношением в ней вегетативных клеток и асков. Для получения более или менее надежных данных, характеризующих этот процесс, приходится просматривать много полей зрения ряда препаратов с тем, чтобы общее количество подсчитанных клеток достигало по меньшей мере нескольких сотен.

Для удобства определения количества вегетативных клеток и асков полезно применять препараты фиксированные и окрашенные с дифференциацией обоих названных элементов.

Большая часть рецептов, рекомендуемых для окрашивания дрожжевых спор сложны и требуют применения редких реактивов. Такова, например, рецептура для окраски спор дрожжей, рекомендуемая Клекером (Klöcker [6]). Автор советует высушенный при комнатной температуре и фиксированный в течение 10—15 минут в растворе Пфеффера препарат перенести в 1%-ный раствор хлорной платины на 2—3 минуты. После промывания водой препарат помещается на 3—5 минут в раствор Чаплевского, после чего промывается, обесцвечивается в 1%-ном H_2SO_4 и снова промывается водой.

Хорошие результаты получены тем же автором при применении собственного оригинального способа, состоящего в том, что высушенный при комнатной температуре препарат фиксируется 10 минут в растворе сулемы в уксусной кислоте, хорошо промывается 70%-ным спиртом и переносится на 3—4 часа в 1%-ный раствор сафранина в 50%-ном спирте. После этого препарат последовательно обрабатывается 5—10 минут анилиновой синью (1% сини в 50% спирта), кислым спиртом (спирт с HCl) в течение 5 секунд и промывается последовательно в 50%, 70% и 90%-ном спирте.

Фролов-Багреев [5] рекомендует для той же цели способ Меллера, который по сути представляет собой не что иное, как общеизвестный способ окраски бактериальных спор и кислотоустойчивых бактерий Циль-Нильсена с предшествующим обезжириванием препарата хлороформом и обработкой 5%-ной хромовой кислотой.

Ситников [3], Никитинский и Алеев [1] и Скородумова [4] приводят для этой же цели вышеупомянутый способ Циля-Нильсена, состоящий в обработке фиксированного мазка горячим фуксином Циля с последующим обесцвечиванием 5%-ной H_2SO_4, промыванием водой с докраской метиленовой синью Леффлера.

Как видно из изложенного, рекомендуемые рецепты основаны на том, что отношение дрожжевых спор к красящим веществам приравнивается к отношению бактериальных спор к этим веществам.

Бактериальные споры, как известно, являются приспособлением, облегчающим перенесение неблагоприятных условий внешней среды, в связи с чем они отличаются повышенной устойчивостью к действию внешних агентов.

Однако, поскольку отношение дрожжевых и бактериальных спор к внешней среде не вполне одинаково, постольку можно ожидать, что они вряд ли обладают и одинаковыми свойствами, обуславливающими их окрашивание под действием тех или иных красителей. Ввиду этого применение к спорам дрожжей указанных сложных способов окраски и сильнодействующих реактивов, вроде концентрированного карболового фуксина, H_2SO_4, спирта и т. п., может оказаться излишним, для проверки чего и были проведены нижеописываемые наблюдения.

Несколько рас винных дрожжей (Sacch. ellipsoideus 41, Имеретия 38, Кахетия 150, Холодостойкие № 6, Штейнберг, Судак II, Сухолиманские и другие) засевались на виноградное, разведенное водой сусло с содержанием сахара 10—11%. Полученные осадки переносились для наступления спорообразования на гипсовые блоки или поверхность скошенного в пробирках «голодного» водного агара. «Голодный» агар давал для нашей цели вполне удовлетворительные результаты, поскольку

отдельные расы (Имеретия, Холодостойкие, Сухолиманские) образовали на нем 60—70% и более асков, что исключало для нас всякую необходимость применять в наших опытах среду Городковой. В разные сроки, после 10—12-дневного пребывания осадков на указанных субстратах, из них изготовлялись мазки, фиксировались над пламенем спиртовки и подвергались окрашиванию по одному из нижеперечисленных способов.

Окраска по стандартной методике Циль-Нильсена дает четкую дифференциацию спор и вегетативных клеток. Споры — малиново-красные, вегетативные клетки — сине-голубые. Не менее четкая дифференцирующая окраска была получена при замене фуксина Циля обычным фуксином Пфейфера, т. е. предыдущим его раствором, разбавленным водой в 10 раз. Вполне удовлетворительные результаты были получены также и при применении фуксина Пфейфера, разбавленного в 5 раз, т. е. при концентрации краски в 50 раз ниже рекомендуемой. При разбавлении фуксина Пфейфера в 10 раз споры еще приобретают розовую окраску, но интенсивность ее сильно ослабевает. Разбавление фуксина Пфейфера в 20 раз почти исключает окраску спор — за редкими исключениями они остаются бесцветными.

Следует указать, что при уменьшении концентрации фуксина в 50 и 100 раз в сравнении с рекомендуемой отпадает необходимость применения для обесцвечивания мазков H_2SO_4 в концентрациях выше 0,2%. Вполне удовлетворительная дифференциация была достигнута при совершенном исключении процедуры обесцвечивания мазков кислотой после прогревания их с раствором Пфейфера, разбавленным в 5 и 10 раз. В этих случаях она может быть заменена простым промыванием водопроводной водой.

Попутно выяснилось также, что и метиленовая синь Леффлера, применяемая для докрашивания мазка, может быть без всякого ущерба для качества окраски разбавлена в 10 раз.

Из изложенного видно, что предположение о значительно более легкой окрашиваемости спор Sacch. ellipsoideus в сравнении с бактериальными спорами подтвердилось. Для окраски спор Sacch. ellipsoideus нет надобности следовать прописи Циль-Нильсена. Используя в качестве окрашивающего их вещества карболовый фуксин, можно рекомендовать следующий прием.

Фиксированный мазок нагревается на пламени спиртовки 30—40 сек. с фуксином Циля, разбавленным водой в 50 раз, промывается водой и докрашивается метиленовой синью Леффлера, разбавленной водой в 10 раз.

Следовательно, подходящей для окраски спор Sacch. ellipsoideus концентрацией фуксина является приблизительно его разведение 1 : 5000 (точнее 1 : 5500), так как 1 г фуксина растворяется в 100 мл дестиллированной воды и 10 мл спирта, а минимальной, дающей очень бледную окраску,— 1 : 10 000 (точнее 1 : 11 000).

Результаты, полученные при окраске спор фуксином, давали возможность предположить, что и по отношению к другим красящим веществам споры винных дрожжей будут вести себя аналогично. Для испытания была взята одна из самых распространенных красок — генциан-виолет. Оказалось, что при условии подогревания мазка спорулирующей культуры с этой краской она может быть использована для окрашивания спор в чистом виде, т. е. без прибавления карболовой кислоты. Генциан-виолет обладает весьма сильной красящей способностью и уже в разведении 1 : 100 000 окрашивает споры винных дрожжей в бледно-фиолетовый цвет.

Для получения удовлетворительных результатов, позволяющих четко дифференцировать споры и вегетативные клетки, мы применяли водные растворы этой краски в разведениях 1 : 20 000—1 : 50 000 с подогреванием мазка в течение 20—30 секунд. Следует отметить, что при поль-

зовании генциан-виолетом даже в столь высоких разведениях мазки необходимо обесцветить H_2SO_4 (0,1—0,2%), так как простое промывание водой с последующей докраской 1%-ным водным раствором эритрозина дает препараты, в которых вегетативные клетки окрашены в фиолетово-лиловые тона, что не дает достаточного контраста с фиолетовой окраской спор.

В сравнении с фуксином и по отношению к спорам винных дрожжей генциан-виолет отличается красящей способностью по крайней мере в 10 раз большей. При этом следует подчеркнуть, что речь идет о чистых водных растворах этой краски, в то время как в растворе Циля действие фуксина усилено карболовой кислотой.

Таким образом, генциан-виолет в указанных разведениях с последующим обесцвечиванием 0,1—2% H_2SO_4, промыванием водой и докраской 1%-ным эритрозином также может быть использован для дифференцированной окраски спороносодержащих культур.

Принимая во внимание отношение спор Sacch. ellipsoideus к фуксину и генциан-виолету, можно было предположить, что и в отношении других красок, например, в отношении такой распространенной, как метиленовая синька, будут получены сходные результаты, тем более, что последняя в модификации Леффлера применена была Пешковым для окраски спор бактерий (цит. по Синаю и Биргеру [2]).

Действительно, оказалось, что синь Леффлера при подогревании мазков легко окрашивает дрожжевые споры в яркоголубой цвет. Однако при дальнейшем испробовании метиленовой сини в качестве красителя выяснился ряд моментов, давших возможность несколько упростить проведение окраски и получить лучшие результаты, чем дает пропись Пешкова в применении к дрожжам.

Прежде всего следует указать, что нет надобности брать для окрашивания спор обычную синь Леффлера. Без всякого ущерба для интенсивности окраски она может быть разбавлена водой в 50 и даже в 100 раз. Тут же можно отметить, что предельным разбавлением, при котором была получена окраска спор, правда очень бледная (само собой разумеется, что мазки при действии метиленовой сини подогреваются), явилось разведение исходного раствора Леффлера в 200—300 раз.

Аналогичные по степени окраски результаты были получены нами при замене Леффлеровской метиленовой сини простым водным раствором этой краски, получаемым насыщением при обычной комнатной температуре 100 мл воды (можно и водопроводной) 1 г краски. Приготовление краски, таким образом, значительно упрощается, но, конечно, при этом снижается и стойкость раствора. Следовательно, метиленовая синь дает удовлетворительные результаты при окрашивании спор в разведениях 1 : 5000—1 : 10 000, т. е. красящая ее способность не ниже, чем фуксина.

Следующим моментом, повышающим качество окраски, является применение для докраски мазков эритрозина, вместо рекомендованной Пешковым для бактерий нейтральной красной. При испробовании для докраски нейтральной красной, эозина и эритрозина на первом месте по качеству следует поставить эритрозин, на последнем же — нейтральную красную.

В сравнении с эозином и нейтральной красной эритрозин всегда давал лучшую контрастность: сине-голубые споры и розово-красные вегетативные клетки.

Механизм окраски, по нашему мнению, заключается в следующем. Промывание мазка водой (надобность в H_2SO_4 отпадает) устраняет с его поверхности избыток метиленовой сини, но, как нами проверено, все элементы мазка остаются сине-голубыми. Раствор эритрозина при докрашивании, действуя, как слабая кислота во-первых, обесцвечивает вегетативные клетки, переводя, возможно, метиленовую синь в лейкосоединение, и, во-вторых, окрашивает обесцвеченную клетку в розовый

цвет. В том, что эритрозин действительно обесцвечивает метиленовую синь, легко убедиться, смешивая в пробирке оба раствора.

Следует указать, что с метиленовой синью и эритрозином была достигнута лучшая контрастность, чем в случаях применения фуксина и генциан-виолета для окраски спор.

Таким образом, рекомендуемая нами пропись окраски спорулирующих культур винных дрожжей сводится к следующему.

Фиксированный на пламени спиртовки мазок подогревается 30—40 секунд с 0,01—0,02%-ным водным раствором метиленовой сини или метиленовой синью Леффлера, разбавленной водой в 50—100 раз до появления пузырьков. Мазок промывается водой и докрашивается 30—40 секунд 1%-ным водным раствором эритрозина, после чего снова промывается водой, высушивается и микроскопируется.

Окраска мазков дрожжей по последнему из указанных нами трех способов может оказаться полезной для ознакомления с онтогенетическими изменениями культуры. Так, в большом количестве мазков, кроме окрашенных эритрозином в розово-красный цвет вегетативных клеток и голубых, окрашенных метиленовой синью спор, встречается то или иное количество фиолетового цвета клеток разной интенсивности окраски. В некоторых из них при внимательном рассмотрении удается заметить нерезкие контуры формирующихся спор.

Иногда, что отмечалось нами для расы Кахетия № 38, при формировании спор в удлиненных по форме клетках удается видеть, что стягивающееся к полюсам клетки содержимое окрашено в лилово-фиолетовый цвет, в то время как экваториальная часть клетки остается розовой. Только что сформировавшиеся аски четко раскрашены в два цвета: оболочка аска в розово-красный и заключенные в ней споры — в сине-голубой.

Количество асков бывает иногда значительно ниже, чем количество фиолетовых клеток, из чего возможно заключить, что не все клетки, достигшие физиологического состояния «фиолетовых клеток», способны в данных условиях превратиться в спороносодержащие аски.

Выводы

1. Дрожжевые споры гораздо легче окрашиваются рядом красителей, чем бактериальные, в связи с чем в настоящей работе предлагаются три способа, в значительной степени упрощающих технику окраски.

2. Способ окраски дрожжевых спор метиленовой синью и эритрозином может оказаться полезным для изучения онтогенетического развития дрожжей, поскольку при его помощи удается обнаруживать переходные формы от вегетативных клеток к аскам.

Украинский институт
виноградарства и виноделия
им. Таирова
Одесса

Получено 30.XII.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1 Никитинский Я. Я. и Алеев Б. С. Практические работы по микробиологии, ч. II, 1943.
2. Синай Г. Я. и Биргер О. Г. Микробиологические методы исследования при инфекционных заболеваниях, М., 1949.
3. Ситников А. П. Микробиология брожения. Второе издание. Снабтехиздат, 1933.
4. Скородумова А. М. Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов, Сельхозгиз, 1949.
5. Фролов-Багреев А. М. Микроорганизмы плодово-виноградных сусел и вин. Снабтехиздат, 1933.
6. Klöcker. Die Gärungsorgonismen. 3. Aufl. Berlin-Wien, 1924.

ПЛЕСНЕВЫЕ ГРИБЫ ИЗ РОДА ASPERGILLUS КАК ПРОДУЦЕНТЫ АМИЛАЗЫ

III. ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ НА КОНИДИЕОБРАЗОВАНИЕ ГРИБА ASPERGILLUS ORYZAE

Р. В. Фениксова и *Р. Б. Сегаль*

При выращивании плесневых грибов на поверхности твердых питательных сред относительная влажность окружающего воздуха является одним из важнейших факторов, определяющих рост и интенсивность конидиеобразования у этих микроорганизмов.

Однако, несмотря на многочисленные исследования, посвященные этому вопросу, имеются расхождения в значениях относительной влажности, которые различные авторы считают оптимальными для развития микроорганизмов. Королев [7] и Панасенко [9] указывают для плесневых грибов оптимальную относительную влажность в пределах 90—95%, а 85% относительной влажности как минимальную для развития всех микроорганизмов. Томкинс (по Heinzeller [14]) считает, что ниже 100% относительной влажности сразу же наступает угнетение прорастания спор. Королев считает нижним пределом развития грибов 70% относительной влажности, а для начала нормального развития от 80% и выше. Шиль [13] дает для Aspergillus oryzae оптимальную относительную влажность 95% и минимальную 80%. Панасенко установил величину относительной влажности для прорастания спор от 75 до 90%, а оптимальную относительную влажность в пределах 90—98%.

Существует мнение [7, 11], что особо решающее значение для роста и конидиеобразования имеет относительная влажность воздуха, непосредственно примыкающего к субстрату, а не средняя влажность окружающего пространства. Королев приводит пример, когда в масле, не плесневеющем в открытом виде, участок, покрытый бумагой, быстро покрывается плесенью, так как от испарения масла под бумагой создается более высокая влажность, чем в окружающей атмосфере.

В некоторых случаях субстрат, по выражению Скородумовой, «сушит» непосредственно примыкающий к нему слой воздуха, в других, наоборот, увлажняет его. Это обстоятельство, возможно, является одной из причин расхождений в определении оптимальной для плесени относительной влажности у различных авторов.

В своей работе мы использовали пшеничные отруби и отруби с лузгой в качестве среды для выращивания гриба Asp. oryzae. Пшеничные отруби были взяты нами потому, что на них достигалась наивысшая активность амилазы в культуре гриба по сравнению с другими естественными средами (зерно, дробина барды, лузга и др.), и потому данная среда может иметь практическое значение.

С другой стороны, избранная нами среда представляет большие затруднения в том отношении, что при работе с ней совершенно невозможно контролировать и производить количественный учет роста мицелия, в связи с чем данные по количеству конидий выражаются в большинстве случаев на 1 г культуры. Чтобы восполнить этот пробел, были проведены специальные опыты с учетом конидиеобразования на единицу поверхности мицелия при выращивании в виде гигантских колоний на агаровой среде.

Прибавление к отрубям такого инертного материала, как овсяная лузга, может играть положительную роль, так как она увеличивает пористость среды, а следовательно, улучшает естественную аэрацию прорастающей культуры. Однако опыты показали, что прибавление лузги свыше 10—15% обедняет питательную среду и приводит к ослаблению роста и резкому падению активности амилазы в культуре.

Конидиеобразование понижается заметным образом только при прибавлении свыше 30% лузги.

Применяя среду из отрубей с 30% лузги, удается повышать высоту слоя с 1,25 до 4—4,5 см без значительного уменьшения количества конидий на 1 г культуры, в то время как на одних отрубях конидиеобразование падает в 2 раза и увеличение высоты слоя становится нецелесообразным (рис. 1).

Предварительными опытами было установлено, что лучшее конидиеобразование наблюдается при влажности среды, равной 55—60%, т. е. при несколько меньшем содержании влаги в среде, чем это необходимо для роста гриба и максимального накопления амилазы [12]. Оптимальная температура для конидиеобразования Asp. oryzae равна 30°, причем

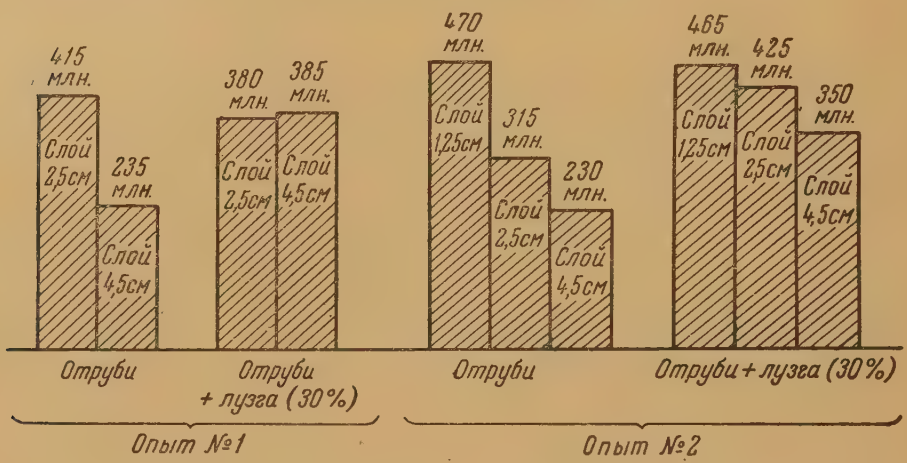


Рис. 1. Влияние высоты слоя среды на конидиеобразование Asp. oryzae

культивирование при повышенной температуре, согласно нашим наблюдениям, более резко угнетает плодоношение, нежели развитие мицелия.

Все последующие опыты по установлению оптимальной для конидиеобразования относительной влажности воздуха проводились при начальной влажности среды 55—60% и с добавлением к отрубям 30% овсяной лузги. Культура гриба на данной среде выращивалась в небольших стеклянных стаканчиках в слое высотой 3 см (не более 10 г влажной среды). Стаканы помещались в большие эксикаторы (емкостью 6—7 л, в которых создавалась необходимая влажность воздуха (при помощи растворов серной кислоты).

Большая ёмкость эксикатора служила гарантией того, что количество кислорода, необходимого для развития гриба, было достаточным.

Крышки эксикатора плотно закрывались, и культура выращивалась в термостате при 30° в течение трех суток. Для поглощения выделяющейся при дыхании углекислоты ставилась открытая чашка Петри с баритом.

В табл. 1 приведены некоторые характерные данные по учету конидиеобразования при различной относительной влажности воздуха.

В трехсуточной культуре при всех величинах относительной влажности воздуха конидии располагались равномерно по всей толще среды и только при 60 и 70% относительной влажности воздуха происходило подсыхание культуры в самом верхнем слое, где рост мицелия был очень слабым и совершенно не образовывались конидии. Несмотря на подсыхание верхнего слоя, количество конидий в средних пробах культуры было почти одинаково при всех испытанных величинах относительной влажности воздуха.

Таблица 1

Влияние относительной влажности воздуха на конидиеобразование Asp. oryzae

№ опыта	Среда	Относительная влажность воздуха в %	Влажность культуры на третьи сутки в %	Количество конидий на 1 г культуры в млн
1	Отруби + 30% лузги	80	46,1	315
		90	52,9	335
		100	54,7	340
2	Отруби	80	57,6	390
		90	60,5	460
		100	60,4	430
3	Отруби + 30% лузги . . .	60	46,1	325
		70	50,9	335
		80	54,6	335
		90	57,5	360
		100	59,1	380

В литературе имеются указания, что при оптимальной температуре роста существует максимальный диапазон оптимальных относительных влажностей. Возможно, что в данном случае этот момент играет некоторую роль, и температура 30°, при которой мы ставили наши опыты, и являлась той оптимальной температурой конидиеобразования гриба Asp. oryzae на данной среде, которая обуславливает наблюдающийся в наших опытах широкий диапазон оптимальных относительных влажностей.

Важнее, однако, на наш взгляд, другой фактор, а именно высокая первоначальная влажность среды (55—60%) и ее уменьшение в процессе роста, которое мы наблюдали при относительной влажности воздуха меньше 90%. Испаряющаяся из культуры влага могла повысить ту заданную относительную влажность воздуха в эксикаторе или несколько увлажнить тот слой воздуха, который непосредственно соприкасается с культурой.

Таким образом, специфические условия, которые создаются при выращивании на сильно увлажненной среде с большой удельной поверхностью, затрудняют точное установление оптимальной влажности воздуха для конидиеобразования. Тем не менее полученные данные показывают, что при низкой относительной влажности воздуха (80% и ниже) происходит подсыхание среды, и конидиеобразование несколько снижается.

Чтобы устранить влияние указанных выше факторов, последующая часть работы по установлению оптимального для образования конидий предела влажности воздуха была проведена на подсушенной агаровой среде при выращивании гриба в виде гигантских колоний.

Выращивание гриба велось на агаровой среде, приготовленной на 20%-ном отваре отрубей, осахаренных препаратом гриба.

Работа проводилась по следующей методике.

Агаровая среда разливалась в чашки Петри, подсушивалась в термостате при 30°, пока крышка чашки не становилась сухой. Обычно через сутки агар оказывался в достаточной степени подсушенным. Блоки, выбитые из агара (диаметр 1,6 см), засевались грибом при помощи укола и переносились на стеклянную пластинку, которая притиралась к цилиндру. В цилиндр предварительно наливалось 20 мл серной кислоты определенной концентрации. Высота цилиндра 18 см, диаметр 4 см. Выращивание проводилось в термостате при 30° и при относительной влажности воздуха от 100 до 50%.

Через сутки при всех относительных влажностях, кроме 50%, наблюдался небольшой рост в виде булавочной головки.

Через двое суток те же колонии имели в диаметре от 1,0 до 1,3 см и были покрыты беловатым воздушным мицелием. При 60 и особенно при 50% относительной влажности колонии были значительно меньше (диаметр 0,7—0,5 см).

На третьи сутки при относительных влажностях от 100 до 70% колонии имели подушковидную форму и занимали весь блок. Воздушный мицелий, особенно при 100% относительной влажности, выходил за пределы блока почти на 0,5 см. Колонии при 60 и 50% относительной влажности имели плоскую форму с низким мицелием.

Конидиеобразование в колониях начиналось обычно на третьи сутки, о чем можно было судить по пожелтению ее поверхности.

Таблица 2

Влияние относительной влажности воздуха на конидиеобразование при выращивании в виде гигантских колоний

Относительная влажность воздуха в %	Количество конидий на всей колонии в млн.			
	№ опыта			
	1	2	3	4
100	9,7	—	32,0	54,7
90	21,0	25,8	33,0	86,2
80	16,2	15,3	11,0	69,0
70	—	10,2	7,5	54,0
60	4,5	5,3	2,0	35,0
50	Единичн.	Ничтожное количество	—	3,5

На пятые сутки опыт снимался и производился подсчет конидий.

Полученные результаты показывают (табл. 2), что оптимум относительной влажности для конидиеобразования при выращивании на подсушенной агаровой среде лежит около 90% относительной влажности. С понижением относительной влажности конидиеобразование равномерно падает.

Полученные результаты дают основание утверждать, что при выращивании на сильно увлажненных отрубях испарение влаги из самой среды изменяло заданную влажность окружающего воздушного пространства, что и приводило к выравниванию количества конидий в различных вариантах опыта (табл. 1).

Имеются также указания на то, что относительная влажность воздуха для конидиеобразования выше, чем для образования мицелия (примерно на 5%). Панасенко подтверждает это положение, но только для минимальной относительной влажности. Оптимальная же относительная влажность, по его данным, одинакова для вегетативного роста и для конидиеобразования.

В противовес этому существует мнение, что при выращивании культуры на отрубях и других естественных материалах конидиеобразование увеличивается, если полностью проросшие грибом отруби начать медленно подсушивать.

На этом основании предлагался даже способ усиления конидиеобразования путем медленного подсушивания в конце выращивания.

Для проверки этого были поставлены следующие опыты выращивания гриба на отрубях. Часть культур выдерживалась при относительной

влажности воздуха 100% в течение 65 часов. Другая часть культур выдерживалась при этой же влажности воздуха 30, 40, 48 часов, а остальное время до 65 часов культура росла при относительной влажности 50—60% (табл. 3).

Микроскопически культуры ни по пигментации, ни по характеру роста, независимо от степени подсушивания, не отличались ни между собой, ни от культуры, которая оставалась в течение всего опыта в условиях 100%-ной влажности.

Количество конидий в культурах, которые сначала выращивались при абсолютной влажности воздуха, а потом при более низкой, было даже меньше, чем в контроле.

Таблица 3

Влияние уменьшения относительной влажности воздуха на конидиеобразование гриба Asp. oryzae при выращивании на отрубях

Время выращивания в часах		Влажность культуры на третьи сутки	Количество конидий на 1 г культуры в млн.	А. С. * на сухое вещество в единицах
при относ. влажности воздуха 100 %	при относит. влажности 50—60%			
65	0	59,8	325	13,4
48	16	54,3	245	13,1
40	24	53,5	250	12,9
30	34	52,4	235	14,5

* Амилолитическая способность культур в единицах на 1 г.

Аналогичные опыты были повторены на агаровой среде при выращивании в виде гигантских колоний.

Гигантские колонии переносились на третьи сутки роста из атмосферы с относительной влажностью 90% в более низкие (80, 70, 60 и 50%). Во всех случаях переноса из оптимальной относительной влажности (90%) в более низкую также имело место уменьшение количества конидий (табл. 4).

Таблица 4

Влияние уменьшения относительной влажности воздуха на конидиеобразование Asp. oryzae при выращивании в виде гигантских колоний

№ опыта	Относительная влажность воздуха в %		Количество конидий на всей колонии через 5 суток в млн.
	начальная	через трое суток	
1	90	90	86,2
	90	70	68,2
	90	50	40,7
2	90	90	33,0
	90	80	31,5
	90	70	19,5
	90	50	11,0

Таким образом, на основании всей проведенной работы можно считать, что поддержание относительной влажности воздуха на уровне около 90% обеспечивает наиболее обильное образование органов плодоношения у гриба Asp. oryzae.

В тех случаях, когда нам удавалось поддержать в воздушном пространстве над культурой гриба заданную влажность (опыты с агаровыми блоками), то мы четко могли установить понижение конидиеобразования по мере уменьшения относительной влажности воздуха от 90 до 50%. Когда рост мицелия с самого начала происходил при пониженной относительной влажности (50%), угнетение роста и конидиеобразование были очень резкими (в 5—10 раз). Если же в атмосферу с пониженной влажностью воздуха гриб переносился через трое суток, то конидиеобразование ослаблялось не так значительно (в 2—3 раза при относительной влажности 50%). Следует также отметить, что на процесс плодоношения уменьшение относительной влажности воздуха, так же, как и некоторые другие неблагоприятные факторы (температура), действует более заметно, чем на рост мицелия и накопление амилазы (табл. 3).

Поддержание оптимальной относительной влажности воздуха при выращивании плесневых грибов на поверхности питательной среды является одним из важнейших условий для их нормального развития.

Во всех вышеприведенных опытах влияние относительной влажности воздуха изучалось в условиях, когда выделяющаяся при дыхании углекислота не устранялась полностью и могла оказывать влияние на процесс конидиеобразования.

До недавнего времени углекислота рассматривалась как конечный продукт дыхания и как вещество, которое может оказывать лишь угнетающее действие на развитие гетеротрофных организмов.

В настоящее время уже имеется достаточно обширный материал, подтверждающий не только положительную, но и важную роль углекислоты для развития гетеротрофных микроорганизмов.

Впервые эту мысль высказал Лебедев (цит. по Работновой [10]), За последние же два десятилетия установлено [3, 15], что в отсутствие углекислого газа микроорганизмы развиваться не могут.

Если, однако, в незначительном количестве углекислый газ необходим для развития микроорганизмов, то в больших количествах он оказывает тормозящее действие. Никитинский [8] показал, что это угнетение вызывается не недостатком кислорода, а специфическим действием самой углекислоты. С этим согласуются данные Загорянского [5], Каюковой [6], а также Худякова и Породко (по данным Андрейча [11]), получивших развитие плесневых грибов при очень малых концентрациях кислорода.

Большинство авторов считает, что задерживающее влияние углекислого газа на рост плесневых грибов начинается с концентрации 10—20%. Тормозящее действие его находится в зависимости от вида гриба, от среды, температуры и относительной влажности воздуха. Многие авторы отмечают [1, 4, 6], что процесс плодоношения более чувствителен к углекислоте, чем вегетативный рост.

Вредное действие накопления углекислоты может быть особенно заметным при выращивании гриба в высоком слое твердой среды, где естественная аэрация затруднена.

Кроме того, здесь в процессе роста происходит уплотнение среды и на разной высоте слоя создаются различные условия влажности, температуры и концентрации углекислого газа.

Необходимо также принять во внимание то обстоятельство, что в период наиболее интенсивного дыхания гриба количество выделяющейся углекислоты может быть довольно значительным и превышать тот уровень, когда она не оказывает отрицательного влияния на развитие гриба. Поэтому мы проследили влияние удаления углекислоты в различные пе-

риоды роста гриба и определили количество конидий при различных режимах продувания воздуха (освобожденного от CO_2) над растущей культурой гриба (рис. 2).

Подсчет конидий показал, что пропускание тока воздуха в первые 17—19 часов роста не дает заметного эффекта (вариант 3). Резкий подъем конидиеобразования наблюдается при продувании воздуха в период интенсивного вегетативного роста гриба и, следовательно, усиленного выделения углекислого газа (№ 2, 5, рис. 2). Продувание в последние 17—19 часов дает снижение количества конидий (№ 4, рис. 2), значительная часть которых, возможно, уносится током воздуха. Этим следует объяснить также отсутствие увеличения количества конидий при непрерывном продувании воздуха в течение всего периода роста.

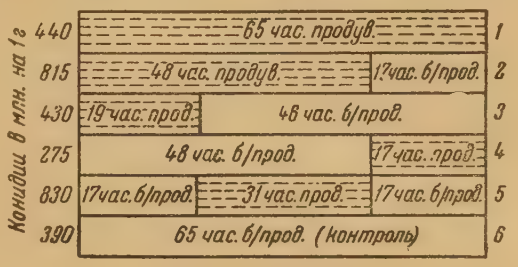


Рис. 2. Режим продувания воздуха

Если же сравнить положительный эффект удаления углекислоты на способность гриба к образованию конидий и отрицательное влияние подсыхания среды, на эту же функцию, то оказывается, что влажность среды и окружающего воздуха играет гораздо более важную роль (табл. 5).

Здесь мы учитывали образование конидий в различных условиях:

1) когда происходило подсыхание среды, так как влажность окружающего воздуха не была оптимальной для конидиеобразования (кювета с культурой открыта), и

2) когда было затруднено удаление углекислоты, но сохранялась влажность среды и воздуха в течение всего периода роста (кювета с культурой закрыта).

Таблица 5

Влияние влажности среды на конидиеобразование Asp. oryzae

Условие опыта	30 час.		48 час.		72 час.		96 час.	
	Влажность в %	Число конидий в млн/г	Влажность в %	Число конидий в млн/г	Влажность в %	Число конидий в млн/г	Влажность в %	Число конидий в млн/г
Кювета открыта	27,0	Нет	24,8	40	19,0	55	14,5	60
„ закрыта	41,2	Единичн.	46,1	177	42,4	745	42,1	1275

Таким образом, даже в условиях затрудненного газообмена, когда выделяющаяся углекислота не удаляется свободно, сохранение влажности среды является тем наиболее важным фактором, который определяет интенсивность конидиеобразования у плесневых грибов. Получение более миллиарда конидий на 1 г культуры является наилучшим результатом, которого нам удалось достичь при проведении всех наших опытов. Там же, где влажность среды падала, конидиеобразование было ничтожным.

Выводы

1. При выращивании плесневых грибов Asp. oryzae на пшеничных отрубях в высоком слое среды (2,5—4,5 см) конидиеобразование не происходит во всей толще среды; при добавлении же 30% инертного мате-

риала (овсяная лузга) увеличивается пористость среды и достигается обильное конидиеобразование по всей толще среды.

2. Оптимальной относительной влажностью воздуха для конидиеобразования гриба следует считать влажность 90—95%, т. е. такой уровень, при котором может быть обеспечено сохранение необходимой влажности среды и предотвращено ее подсыхание.

3. Уменьшение относительной влажности воздуха, т. е. подсушивание культуры в последний период ее роста, приводит к ухудшению конидиеобразования.

4. Сохранение влажности среды в оптимальных для конидиеобразования пределах является наиболее важным фактором, определяющим интенсивность данного процесса. В то же самое время удаление углекислоты в период наиболее интенсивного роста культуры, хотя и улучшает условия конидиеобразования, но не является для этого процесса решающим фактором.

Всесоюзный научно-исследовательский институт спиртовой промышленности
Москва

Получено 25.VI.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев П. А., Ворошилова Л. А., Карасева А. А. и Загорянский В. С. Влияние CO_2 на скоропортящиеся продукты. За передовую холодильную технику, Сб. № 1, 1933.
2. Андрейча Н. И. Комбинированное влияние углекислоты и высоких концентраций сахара на развитие плесневых грибов. Микробиология, **V**, вып. 5. 1936.
3. Аристовская Г. В. Значение CO_2 в жизнедеятельности гетеротрофных микроорганизмов. Успехи совр. биол., XVII, вып. 1. 1944.
4. Беккер З. Э. Влияние внешних воздействий на плодоношение у грибов. Успехи совр. биол., V, вып. 3, 1936.
5. Загорянский В. С. Влияние CO_2 на хранение плодов. Тр. Центр. научно-иссл. биох. ин-та пищевой и вкусовой пром-сти, III, вып. 5 (22), 1933.
6. Каюкова Н. И. Влияние CO_2 на развитие плесневых грибов, поражающих масличные семена при их хранении. Тр. Центр. научно-иссл. биох. ин-та пищевой и вкусовой пром-сти, III, вып. 5 (22). 1933.
7. Королев С. А. Техническая микробиология молока и молочных продуктов. Пищепромиздат, 1940.
8. Никитинский Я. Я. Углекислый газ как консервант при хранении пищевых продуктов. Пищевая промышленность, № 5 и № 6, 1932.
9. Панасенко В. Т. Плесневые грибы кондитерских изделий и борьба с ними. Микробиология, X, вып. 4, 1941.
10. Работнова И. Л. Приоритет русского микробиолога А. Ф. Лебедева в открытии способности гетеротрофных бактерий усваивать углекислоту. Микробиология, XIX, вып. 3, 1950.
11. Скородумова А. М. Практическое руководство по технической микробиологии молочного дела, Гос. изд-во М.-Л., 1933.
12. Фениксова Р. В., Сегаль Р. Б., Родзевич В. И. и Шилова А. А Плесневые грибы из рода Aspergillus как продуценты амилазы. II. Активность амилазы гриба Aspergillus oryzae в зависимости от условий выращивания на твердых естественных средах. Микробиология, XXII, вып. 2, 1953.
13. Шиль В. Н. Влияние относительной влажности воздуха на развитие Aspergillus oryzae. Тр. Центр. научно-иссл. лаборатории по переработке сои, вып. 3, 1939.
14. Heinzeller Yr. Das Wachstum der Schimmelpilze in Abhängigkeit von den Hidraturverhältnissen unter verschiedenen Aussenbedingungen. Arch. Mikrob., **13**, H. I, 92, 1939.
15. Werkman C. H. and Wood H. G. Heterotrophic assimilation of carbon dioxide. Adv. Enz., **II**, 135, 1942.

О ВЫХОДЕ СПИРТА ПРИ ДРОЖЖЕВОМ БРОЖЕНИИ

1. УЧЕТ ФАКТИЧЕСКОГО ВЫХОДА СПИРТА ПРИ СБРАЖИВАНИИ ДРЕВЕСНЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ

Е. К. Кардо-Сысоева и В. А. Утенкова-Ранцан

К настоящему времени создана законченная, стройная схема, раскрывающая по всем промежуточным стадиям химизм спиртового брожения. В ее расшифровке видную роль сыграли работы русских биохимиков: Иванова, Лебедева, Палладина, Костычева, Львова, Элиасберга, Энгельгардта, Фердмана и др. Однако уже давно было установлено, что практически брожение всегда проходит с более или менее значительным отступлением от идеального итогового уравнения.

Суммарный баланс спиртового брожения, проведенный еще Пастером, показал, что на спирт и углекислоту расходуется 94—95% сброженного сахара, а остальные 5—6% превращаются в глицерин, янтарную кислоту, добавочную углекислоту и дрожжи. С течением времени изучение побочных процессов при брожении углублялось и привело к значительной ясности в ходе отдельных реакций. В результате был установлен генезис большей части побочных продуктов брожения, являющихся либо промежуточным продуктом, частично стабилизированным в среде, либо продуктом реакции дальнейшего превращения одного или нескольких промежуточных веществ.

Установлено, например, что при выведении накапливающегося уксусного альдегида из сферы реакции, брожение идет по пути образования глицерина и углекислоты; в щелочной среде брожение отклоняется от основной схемы на стадии центральной оксидоредукции, которая заменяется дисмутацией двух молекул уксусного альдегида в спирт и уксусную кислоту; при недостатке в дрожжах карбоксилазы пировиноградная кислота восстанавливается в молочную; выведено уравнение, связывающее образование глицерина и бутиленгликоля и проч. Перечисленные реакции изучались или при помощи искусственного вмешательства в процесс, или при резком нарушении обычных условий брожения.

Исследованию побочных процессов при нормально идущем брожении посвящено лишь небольшое количество работ, относящихся преимущественно к области виноделия.

Ясно, что суммарная интенсивность побочных реакций определяет собой выход спирта при брожении. И тем не менее, мы не располагаем почти никаким литературным материалом, в котором изучение развития побочных процессов спиртового брожения было бы поставлено в связь с выходом спирта из сбраживаемого сахара. Более того, в подавляющем большинстве работ, касающихся спиртового брожения, меньше всего внимания уделено этиловому спирту, который рассматривается как нормальный конечный продукт, и старания исследователей устремляются на выведение теоретических уравнений; при изучении механизма и динамики брожения о его интенсивности, как правило, судят по выделению углекислоты, очевидно в силу простоты этого метода учета; в отрасли виноделия и спиртового производства, в результате многовекового опыта, уже сложилась хорошо разработанная технология достаточного спиртонакопления, выходы достигают 93—95% от теории, и вопрос о повышении выхода спирта не ставится во главу угла.

Но молодая гидролизная промышленность, дающая стране более дешевый технический спирт из древесины, находится в особом положении: здесь проблема наибольшего спиртообразования оказалась острой, нерешенной и новой. Специфика химического состава древесного сусла и технология бродильного процесса резко отличает гидролизное производство от условий переработки пищевого сырья на спирт. Гидролизат содержит не свыше 2,5—3% сбраживаемых сахаров, представляющих собой смесь глюкозы, маннозы и галактозы. Кроме того, в процессе гидролиза древесины образуется ряд веществ, переходящих в небольших концентрациях в сусло и отражающихся на жизнедеятельности дрожжей. Сюда относятся: фурфурол, метанол, уксусная, левулиновая, муравьиная, уроновые и смоляные кислоты, коллоидные гумины (продукты кислотного распада сахаров) и проч.; накопление перечисленных веществ в гидролизатах находится в зависимости от режима гидролиза. На заводах установлен процесс непрерывного сбраживания гидролизатов большим количеством дрожжей, концентрация которых составляет 15—25 г в литре, и которые возвращаются в голову бродильной бата-

реи после сепарации бражки, поступающей далее на ректификацию спирта. Таким образом, дрожжевая масса завода работает бессменно в течение ряда лет, представляя собой культуру, адаптированную к специфической среде.

Цифровой материал по заводам гидролизной промышленности свидетельствует об огромном недоборе спирта, доходящем до 20—27% от теоретического выхода. Возник ряд вопросов: обоснованы ли методически получаемые низкие выходы спирта? Какие факторы его определяют? На какие побочные процессы непроизводительно затрачивается сбраживаемый сахар в ущерб спиртообразованию? Какими путями можно затормозить эти процессы с тем, чтобы направить ход брожения в сторону максимального накопления спирта? Если перечисленные вопросы несколько и затронуты в применении к виноделию, то они совсем не поставлены в отношении сбраживания низких концентраций сахара и, в частности, гидролизатов древесины; все работы по балансу брожения, начиная с Пастера [2] и кончая работами Гваладзе [1] и Женевуа (Genevois [3], посвящены изучению накопления побочных продуктов при длительном сбраживании высоких концентраций сахара малым количеством дрожжей, при обеспеченных высоких выходах спирта, дальнейшее повышение которых не входило в задачу исследователей.

Лабораторное сбраживание проб нейтрализованного гидролизата подтверждало низкие производственные выходы спирта, рассчитанные, как и на заводах, по падению содержания редуцирующих веществ (РВ) при брожении, принимаемому за «сбраживаемый сахар». Между тем известно, что реакция восстановления медно-щелочного раствора далеко не специфична для сахаров, так как редуцирующей способностью обладают многие вещества, имеющие карбонильную группу; некоторые из этих веществ (например, фурфурол) теряют восстановительные свойства в процессе брожения и по принятому методу определяются как «сбраживаемый сахар». Был сделан ряд попыток предварительного удаления из гидролизата посторонних редуцирующих примесей, как, например, извлечение их дихлорэтаном или осаждение уксуснокислым свинцом, но такая обработка не гарантировала полноты удаления несахаров и не устранила условности определений сбраживаемого сахара.

Мы не могли приступить к разрешению перечисленных нами выше вопросов до тех пор, пока не установили содержания истинного сбраживаемого сахара в гидролизатах и не вычислили по нему фактический выход спирта, который мог бы служить надежным критерием при изыскании способов его повышения в условиях лабораторного и производственного брожения.

Прежде всего нами разбирается методическая сторона учета выходов спирта. При этом определения концентраций спирта в бражке не вызывают сомнений (флотационный метод Гидролизного ин-та), но учет сбраживаемого сахара, по которому рассчитывается выход спирта, требует пересмотра.

На заводах нейтрализованный гидролизат до брожения проходит стадию охлаждения на градирне и фильтрации, где подвергается частичному сбраживанию посторонними микроорганизмами и случайными дрожжами. Поэтому готовое сусло, поступающее непосредственно в бродильную батарею, содержит уже, как правило, в небольших количествах спирт

Таблица 1

Сбраживание заводскими дрожжами средних проб гидролизата и сусла

Среда	До брожения в %		После брожения в %		Выход спирта	
	РВ*	спирт	РВ	спирт	от сброжен. РВ в л на 100 кг	от теоретического в %
Нейтрализованный гидролизат	2,93	—	0,69	1,15	51,3	79,6
Очищенное сусло	2,66	0,03	0,68	1,14	56,1	87,1
Синтетическая среда с глюкозой и автолизатом дрожжей	2,50	—	0,00	1,36	54,5	84,6

* РВ — редуцирующие вещества.

и меньшее количество сахара (РВ), чем свежевыработанный и нейтрализованный гидролизат.

Выход спирта по истраченным редуцирующим веществам, при лабораторном сбраживании этих сред оказывается различным (табл. 1).

Сразу же возникает вопрос: отвечает ли хотя бы одна из полученных цифр фактическому выходу спирта в бродильной батарее завода? Выход спирта из гидролизата ниже, чем из глюкозы, но выход спирта из сусла (за вычетом спирта, найденного до брожения) превышает выход из глюкозы. Очевидно, что причина этого явления кроется в предварительном подбраживании сусла в процессе его подготовки, когда расход сахара не компенсируется накопленным спиртом (0,03% спирта). Значение такой разбивки производственного брожения на отдельные фазы выясняется из лабораторного опыта, где рассчитаны выходы спирта последовательно, по срокам брожения (табл. 2).

Таблица 2

Динамика сбраживания заводскими дрожжами глюкозы и гидролизата

Среда	Интервал времени в часах	Истрачено сахара в %	Накоплено спирта в объемных %	Выход от теоретич. по интервалам в %		Конечный выход от теоретического в %	
				спирт	CO_2	спирт	CO_2
Глюкоза 1,91%	0—1,5	0,84	0,18	33,2	58,5	83,7	85,8
	1,5—3	0,79	0,40	78,5	82,9		
	3—6	0,28	0,45	259,2	153,5		
Нейтрализованный гидролизат	0—2	1,36	0,66	75,4	73,7	80,7	86,0
	2—4	0,97	0,50	80,1	74,4		
	4—6	0,54	0,33	94,8	125,1		
	6—20	0,13	0,07	83,5	78,6		

В начальной фазе сбраживания глюкозы происходит потеря карбонильных групп углеводов; последние временно фиксируются в виде промежуточных продуктов брожения, которые перерабатываются полностью в спирт и углекислоту только при завершении процесса. Отсюда начальные выходы спирта в 30% от теории перерастают в конце брожения в выходы, превышающие 250% от теоретического.

Известный параллелизм выходов углекислоты и спирта, дающих вспышку в конце брожения, свидетельствует о том, что временная фиксация сахара связана с продуктами, предшествующими уксусному альдегиду, образование которого сопровождается, как известно, выделением углекислоты.

Опыт показывает, что нельзя вести расчет выходов спирта в бродильной батарее по истраченному при брожении сахару, если начальная стадия процесса уже прошла в период охлаждения сусла на градирне.

Динамика сбраживания гидролизата идет по той же схеме, что и глюкозы, но снижение выхода спирта в конце брожения, а также итогового выхода дает прямое указание на потребление заводскими дрожжами восстанавливающих несахаров, неспособных продуцировать спирт и CO_2 и искажающих определения сбраживаемого сахара по разности РВ до и после брожения.

Все сказанное привело нас к необходимости разработки нового метода определения истинного сбраживаемого сахара в нейтрализованном гидролизате и в охлажденном сусле.

Метод основан на вычислении количества сброженного в гидролизате сахара по количеству образовавшегося спирта. Для того чтобы найти количество сахара, соответствующее единице полученного спирта, одно-

временно с гидролизатом теми же дрожжами сбраживают точную навеску глюкозы. Выход спирта из глюкозы и служит коэффициентом пересчета спирта в сброженный сахар. Применение этого метода требует уверенности в том, что и сахара гидролизата и глюкоза в синтетической среде сбродили с одинаковым выходом спирта: положение, далеко не очевидное в связи с различиями в составе этих сред. Для его проверки сбраживали одними и теми же дрожжами три среды: 1) испытуемый гидролизат при pH-4, 6—4, 9; 2) 2,25—2,50% глюкозу (точная навеска безводной глюкозы) с 5% дрожжевого автолизата в качестве буфера и 3) этот же гидролизат с прибавлением такой же навески глюкозы. О полноте доброда сахара судили по отсутствию выделения CO_2 в течение двух часов (табл. 3).

Таблица 3

Определение сбраживаемого сахара в гидролизате

(150 мл среды; 3 г заводских дрожжей)

Среда	РВ в %		Спирт		Сбражив. сахар. Расчет по выходу спирта из глюкозы в %
	начальн.	остаточн.	в объемных %	выход из 100 кг истрачен. РВ в л	
Гидролизат	3,19	0,70	1,28	51,4	—
	3,19	0,69	1,28	51,2	
Глюкоза	2,25	0,00	1,27	56,5	2,26
	2,25	0,00	1,28	56,9	
Гидролизат + глюкоза	5,36	0,73	2,52	54,4	2,29
	5,36	0,72	2,52	54,3	

Для вычисления содержания сбраживаемого сахара достаточно знать выход спирта из заданной навески глюкозы и концентрацию спирта в бражке гидролизата. Последнюю пересчитывают в сахар соответственно выходу спирта из глюкозы. В нашем примере получена концентрация сбраживаемых сахаров:

$$\frac{1{,}28\ (\text{конц. спирта в бражке гидролизата}) \times 100}{56{,}7\ (\text{средн. выход спирта из глюкозы})} = 2{,}26\%$$

Для проверки идентичности брожений вычисляют выход спирта из глюкозы, внесенной в тот же гидролизат:

2,52 (конц. спирта в смеси) — 1,28 (конц. спирта в гидролизате) $\times$ 0,985* = 1,26% (конц. спирта в смеси за счет прибавленной глюкозы).

Выход спирта из прибавленной глюкозы составляет:

$$\frac{1{,}26 \times 100}{2{,}25\ (\text{навеска прибавл. глюкозы})} = 56{,}0\ \text{л}.$$

Расчет содержания сбраживаемого сахара по выходу спирта из глюкозы, внесенной в гидролизат, дает:

$$\frac{1{,}28 \times 100}{56{,}0} = 2{,}29\%,$$

т. е. величину, весьма близкую к той, которая была получена при вычислении содержания сахара по выходу спирта из глюкозы, сброженной от-

* 0,985 — поправка на объем внесенной глюкозы.

дельно. В наших многочисленных опытах оба приведенных способа вычисления давали близкие результаты (±1,0—1,5%), что указывало на слагаемость сбраживания глюкозы и гексоз гидролизата в их смеси, при использовании относительно высоких концентраций дрожжей (20 г в 1 л).

Общепринятое прямое определение «сбраживаемых РВ» в том же гидролизате по падению содержания редуцирующих веществ при брожении дало явно преувеличенную концентрацию 2,49%. По этой величине выход спирта составил бы 79,6% от теории; по истинному сбраживаемому сахару (глюкозный метод) — 87 или 88%, в зависимости от способа расчета. Опираясь на слагаемость брожений, мы считаем второй результат наиболее правдоподобным, а преувеличенные размеры разности РВ при

Таблица 4

Определение сбраживаемого сахара в сусле

(150 мл среды; 3 г заводских дрожжей)

Среда	РВ %		Спирт		Сбражив. сахар. Расчет по выходу спирта из глюкозы в %
	начальн.	остат.	в объемных %	выход из 100 кг истрачен. РВ в л	
Сусло	2,74	0,78	1,13	57,7	
		0,78	1,12	57,1	
Глюкоза	2,50	0,00	1,37	54,8	2,04
		0,00	1,37	54,8	
Сусло + глюкоза	5,24	0,77	2,47	55,3	2,06
		0,79	2,47	55,5	

сбраживании гидролизата объясняем наличием в нем редуцирующих несахаров, «потребляемых» при брожении заводскими дрожжами.

Этот метод, названный глюкозным, совсем не связан с определением РВ (редуцирующих веществ); поэтому с его помощью можно найти содержание сбраживаемого сахара в любой среде, сложной по химическому составу, даже при условии наличия в ней «скрытого» сахара (промежуточных продуктов брожения), как в гидролизном сусле, прошедшем стадию подбраживания в процессе охлаждения и фильтрации на заводах (табл. 4). Поскольку «скрытый» сахар дает спирт, он также учитывается как сбраживаемый сахар.

Здесь получен выход спирта из отдельно сброженной глюкозы 54,8 л; из глюкозы, внесенной в сусло — 54,4 л, т. е. также получена слагаемость сбраживания сахаров сусла и глюкозы в их смеси. Содержание истинного сбраживаемого сахара, рассчитанное по выходу спирта из одной глюкозы составило 2,04%; расчет по выходу спирта из глюкозы, прибавленной к суслу — 2,06%. Средний выход спирта по этим сахарам составляет 84,7% от теории, что соответствует истинному выходу спирта при сбраживании сусла.

Учитывая, что в состав сбраживаемых гексоз гидролизата, помимо глюкозы, входят также манноза и галактоза, мы использовали для определения сбраживаемого сахара, наряду с глюкозой, также и смесь трех гексоз, моделирующую сбраживаемый комплекс гидролизата. В табл. 5 даны количества сбраживаемого сахара, найденные при помощи одной глюкозы и смеси гексоз, согласно расчетам, применяемым в глюкозном методе.

Таблица 5

Содержание сбраживаемого сахара в гидролизате, вычисленное по выходу спирта из одной глюкозы и из смеси гексоз

(Смесь: 77% глюкозы, 18% маннозы и 5% галактозы)

Способ определения сбраживаемого сахара			Выход спирта из 100 кг истрач. РВ в л	Найдено сбражив. сахара в %
По глюкозному методу	С глюкозой	Расчет по одной глюкозе	58,0	2,43
		Расчет по прибавл. глюкозе	57,2	2,46
	Со смесью гексоз	Расчет по одним гексозам	58,8	2,40
		Расчет по прибавл. гексозам	57,9	2,44
По разности РВ до и после брожения			50,5	2,79

Мы получили достаточно совпадающие результаты: предел колебаний не превышает ±1,0—1,5%; следовательно, для определения сбраживаемого сахара можно пользоваться одной глюкозой.

При помощи описанного метода были определены выходы спирта непосредственно на гидролизном заводе. Получен следующий ряд средних цифр за 20 суток непрерывного брожения: *

Содержание «сбраживаемых РВ» в гидролизате	2,35%
Содержание истинного сбражив. сахара в гидролизате	2,24%
Содержание истинного сбражив. сахара в сусле	2,11%
Содержание спирта в бражке	1,15 об. %
Спиртообразовательная способность дрожжей	54, 0 л
Выход спирта по разности РВ в гидролизате (75,9% от теории)	48, 9 л
Выход спирта от истинного сбраживаемого сахара в гидролизате (79,6% от теории)	51,3 л
Выход спирта от истинного сбраживаемого сахара в сусле (84,6% от теории)	54,5 л

Первые два расчета выхода спирта объединяют потери при подготовке сусла и потери при брожении. Последняя цифра (54,5 л из 100 кг истинного сбраживаемого сахара или 84,6% от теории) соответствует фактическому выходу спирта в бродильной батарее завода.

Таким же способом был определен фактический выход спирта на двух других гидролизных заводах. На одном из заводов найдено 56,0 л спирта на каждые 100 кг истинного сбраживаемого сахара в сусле (или 86,9% от теории); на другом заводе в разные периоды наблюдались колебания в выходах спирта от 53 до 57 литров (от 82 до 89% от теории).

Применение глюкозного метода на заводах позволило не только констатировать величину выхода спирта в бродильной батарее, но также и разобраться в причинах найденного недобора, благодаря установлению потерь на отдельных стадиях производства. Например, на первом заводе, несмотря на доброкачественное сусло, выработанное при мягком режиме гидролиза, снижение спиртообразовательной способности дрожжей было

* Данные по нейтрализованному гидролизату приведены с поправкой на изменение объема при испарении на градирне.

вызвано рядом искажений в режиме брожения, впоследствии приведших к отмиранию культуры. На втором заводе, напротив, даже организацией оптимального режима брожения не удавалось повысить выхода спирта вследствие значительного накопления вредных веществ (органических кислот и коллоидов) при слишком жестком гидролизе и т. д.

* * *

Анализируя полученный материал, мы приходим к нижеследующим представлениям.

С одной стороны, ряд испытанных культур дрожжей дает при сбраживании стандартного раствора глюкозы различные выходы спирта, колеблющиеся в пределах 52—58 л на каждые 100 кг истраченной глюкозы, что соответствует 82—89% от теории; колебания в выходах спирта из глюкозы, т. е. в величине спиртообразовательной способности дрожжей значительны, как у различных культур, так и во времени у одной и той же культуры и в большой степени зависят от условий непрерывного брожения на заводе (режима брожения и состава среды).

С другой стороны, каждая из испытанных культур дрожжей показала при производственном непрерывном брожении тот же выход спирта, что и при однократном сбраживании глюкозы или гидролизата (истинных гексоз) в лабораторных условиях.

Казалось бы, здесь кроется противоречие: если выходы спирта при непрерывном брожении резко меняются под влиянием внешних условий, то как объяснить идентичность выходов при сбраживании таких различных по составу сред, как глюкоза и древесный гидролизат?

Величина спиртообразовательной способности дрожжей определяется суммарной активностью всего набора ферментов, имеющихся в клетке. В свою очередь эта суммарная активность складывается из соотношений скоростей отдельных ферментативных реакций, ведущих и сопровождающих спиртовое брожение.

В условиях непрерывного брожения, под влиянием особенностей режима и состава среды отдельные ферменты дрожжевой клетки могут постепенно изменить свою активность, истощаясь, старея или, напротив, вновь формируясь в ряде поколений. В итоге изменяется спиртообразовательная способность дрожжей.

Для того чтобы определить спиртообразовательную способность дрожжей, так сказать, засечь ее в какой-либо данный момент, мы даем при анализе один раз сработать тому набору ферментов, который сложился путем длительного воздействия на клетку в производственных условиях брожения. В этом случае образовавшийся набор ферментов работает как любой комплекс химических реагентов, согласно свойственным ему скоростям реакций при созданных условиях. Разумеется, такого рода испытание должно проводиться достаточно кратковременно во избежание перевоспитания клеток, что достигается применением высокой концентрации дрожжей (20 г на 1 л среды). Очень важно то, что подобранные нами стандартные условия определения спиртообразовательной способности дрожжей (концентрация сахара и дрожжей) близки к тем, в которых сложились свойства клеток (производственное брожение). Вот почему спиртообразовательная способность дрожжей, меняющаяся в обстановке заводов (непрерывное брожение), может быть просто измерена по выходу спирта из глюкозы (однократное брожение) и дает сравнимые величины.

Далее ясно, что дрожжи, обладающие данной спиртообразовательной способностью, в данный период, в бродильной батарее сбродят сахар с тем же эффектом, с каким они сбродят глюкозу в лаборатории. Вот почему по простому лабораторному испытанию можно судить о выходе спирта в бродильной батарее завода в данный момент.

Выводы

1. Фактические выходы спирта на гидролизных заводах составляют 82—89% от теории, или 52—57 л из 100 кг истинного сбраживаемого сахара в поступающем на брожение сусле. Заниженные выходы заводских расчетов объясняются: 1) преувеличенными данными по определениям сбраживаемого сахара за счет редуцирующих несахаров гидролизата и 2) включением в расчет потерь сахара на стадии подготовки сусла.

2. Спиртообразовательная способность дрожжей, определяемая по выходу спирта из глюкозы в стандартных условиях, моделирующих заводское брожение, соответствует фактическому выходу спирта в бродильной батарее завода в данный период.

3. Спиртообразовательная способность дрожжей является показателем не стабильного качества испытуемой культуры или расы, а главным образом физиологического состояния ее в данный момент. Это значит, что дрожжевая клетка пластична по этому признаку: ее способность к накоплению спирта изменяется в условиях непрерывного брожения и размножения в бродильной батарее завода; при этом дефицит спирта колеблется в пределах 11—18%.

Всесоюзный Научно-исследовательский институт гидролизной и сульфитно-спиртовой промышленности
Ленинград

Получено 26.VII.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гваладзе В. Корреляция между продуктами алкогольного брожения. Изд. Закавк. ин-та виногр. и винод., Тбилиси, 1936.
2. Пастер. Л. Исследования о брожениях. Перевод. Сельхозгиз, 1937.
3. Genevois L. Essais de bilans de la fermentation alcoolique due aux cellules de levures. Biochim. et Biophys. Acta 4, 179, 1950.

ЭФФЕКТИВНЫЙ АНТИСЕПТИК ПРОТИВ КИСЛОТООБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

С. А. Коновалов

Из многих антисептиков, известных по литературным данным, особый интерес представляет пентахлорфенолят натрия. Этот фенольный препарат обладает высокой бактерицидностью, превышающей в 4—5 раз активность фенола [1, 2]. Относительно низкие концентрации его (0,1—0,25%) оказывают эффективное действие на бактерии стафилококка и особенно кишечную палочку [1]. Данный антисептик должен привлечь к себе внимание исследователей и может найти широкое применение в бродильном производстве и в других отраслях промышленности. Антисептик должен быть в первую очередь высокобактерицидным по отношению к кислотообразующим бактериям, причиняющим большой вред производству. Эти бактерии вносятся в субстрат в основном с зеленым солодом, употребляемым для гидролиза крахмала сырье. Солод является главным источником инфекции на производстве. Поэтому антисептик должен быть бактерицидным для микрофлоры солода. В состав микрофлоры солода, по данным многих авторов [3, 4, 5] входят следующие микроорганизмы: молочнокислые, маслянокислые, уксуснокислые, сенная палочка, сарцины, микрококки и др. При этом необходимо отметить, что микрофлора солода первых дней роста отличается от микрофлоры последующих дней ращения. По мере того как крахмал солода переходит в сахар, начинают развиваться такие микроорганизмы, которым необходим этот сахар как основное питательное вещество. В это время появляются, наряду с дрожжами и плесневыми грибами, молочнокислые бактерии, причем солода летнего ращения дают больше молочнокислых кислотообразователей, нежели солода зимнего ращения.

Из всей разнообразной микрофлоры, населяющей солод, только «дикие» молочнокислые бактерии оказывают угнетающее действие на жизнедеятельность дрожжей и на процесс брожения.

В задачу настоящей работы входило выяснение антисептического действия пентахлорфенолята натрия на чистые культуры кислотообразующих бактерий и микрофлору зеленого солода.

Экспериментальная часть

Методика

Действие антисептика на кислотообразующие бактерии устанавливалось на культурах молочнокислых, уксуснокислых и маслянокислых бактерий. Для размножения молочнокислых бактерий (Delbrückii) готовилась среда из зеленого солода, размельченного на мельнице и смешанного с водой в соотношении 1 : 4. Солодовый затор ставился в термостат на самоосахаривание, потом он освобождался от дробины и дополнительно разбавлялся водой до содержания в нем 8° сухих веществ по сахарометру. Приготовленная указанным способом среда разливалась по колбам и стерилизовалась в автоклаве в течение 20 минут при давлении в пол-атмосферы. Затем в среду вносились различные количества (от 0,001 до 0,2%) антисептика и посевная культура чистых молочнокислых бактерий. Периодически, через каждые 24 часа, в субстрате определялась кислотность и подсчитывалось количество бактериальных клеток.

Среды для размножения уксуснокислых бактерий (Schützenbachii) готовились из пивного сусла, содержащего 3% спирта.

Размножение маслянокислых бактерий (Granulobacter species) велось на ячменном заторе, приготовленном из муки (9 г), разбавленной водой (150 мл) в соотношении 1 : 16. После предварительной клейстеризации крахмала затор стерилизовался 1 час в автоклаве при 1 атм.

Влияние антисептика на микрофлору зеленого солода устанавливалось следующим способом. К солоду (или солодовой муке) добавлялся раствор антисептика, через 20—30 минут раствор сливался, а солод промывался водой и переносился в стерильное сусло (8—10° по сахарометру) на самозакисание. В сусле периодически определялась кислотность и в отдельных опытах производился подсчет бактериальных клеток. Метод самозакисания дает более правильные результаты, чем количественная характеристика микрофлоры по росту в чашках Петри. Это объясняется тем, что некоторые виды молочнокислых и других бактерий плохо растут в аэробных условиях на твердой среде. Количество микроорганизмов, полученных обыкновенным высевом, не дает правильной микробиологической характеристики солода, так как кислотообразователи таким способом не обнаруживаются. Кроме того, примененный метод обеспечивает наиболее благоприятные условия для развития бактерий, оставшихся живыми после обработки их раствором антисептика, и дает возможность установить бактерицидность испытываемого вещества.

Если после соответствующей обработки субстрата антисептиком и перенесения его в сусло создаются благоприятные условия для развития оставшейся инфекции, то при спиртовом брожении незначительная инфекция дополнительно подавляется дрожжами и продуктами брожения.

Результаты опытов

Антисептическое действие пентахлорфенолята натрия на молочнокислые бактерии. Антисептик применялся в различных дозах: концентрация его в среде варьировалась от 0,001 до 0,2%. При этом было установлено, что даже минимальные концентрации пентахлорфенолята натрия, соответствующие 0,001—0,003% заметно задерживают размножение бактерий, особенно в первые сутки опыта. Количество бактериальных клеток (105—58 млн.) за это время было в 2—4 раза меньше, чем в среде без антисептика (277 млн.). Кислотность среды, содержащей антисептик, равнялась 0,4—0,2° вместо 0,8° среды контрольного опыта.

Добавление антисептика в количестве 0,005 и 0,01% за первые 24 часа совершенно задерживает размножение молочнокислых бактерий. Так, например, если в начале опыта бактериальных клеток в 1 мл содержалось 15,3 млн., то после 24 часов размножения их было не больше 20 млн., а иногда даже меньше (7,1 млн.). Кислотность также оставалась без изменения и равнялась 0,1°Д. Увеличение количества бактериальных клеток, а также нарастание кислотности сусла имело место при указанных концентрациях пентахлорфенолята натрия лишь при длительном 48—72-часовом размножении бактерий (табл. 1). Однако и такой прирост бактериальных клеток был не во всех опытах.

Антисептик в концентрации 0,005—0,01% оказывает различное бактерицидное действие в зависимости от количества бактерий, вносимых в среды с посевной культурой. Эффективность действия антисептика повышается с уменьшением первоначального числа бактерий в среде. Например, если в начале опыта среда содержала в 1 мл около 8 млн. бактериальных клеток, вместо 15 млн., как это было в другом опыте, то указанные концентрации пентахлорфенолята натрия совершенно приостанавливали размножение молочнокислых бактерий. Количество клеток после суточного размножения бактерий было 42 и 86 млн. в зависимости от концентрации антисептика, а через 48 часов соотвественно 33 и 79 млн. в 1 мл. Следовательно, за вторые сутки опыта размножение бактерий совершенно отсутствовало. Кислотность среды за весь период опыта оставалась неизменной, она равнялась как за первые сутки размножения, так и за вторые сутки 0,1°Д.

В средах без антисептика в 1 мл содержалось 277 и 410 млн. бактериальных клеток за первые сутки размножения и 417 и 463 млн. в конце опыта, а кислотность соответственно равнялась 0,6—0,8° и 1;2—1,6°Д (табл. 1).

Наряду с пентахлорфенолятом натрия исследовалось действие трихлорфенолята натрия, но по бактерицидности последний антисептик уступал первому. Низкие концентрации трихлорфенолята натрия, соответ-

Таблица 1

Бактерицидное действие пентахлорфенолята натрия на молочнокислые бактерии

Концентрация антисептика в %	Количество бактериальных клеток в 1 мл в млн				Кислотность субстрата в °Д			
	в начале опыта	через 24 ч.	через 48 ч.	через 72 ч.	в начале опыта	через 24 ч.	через 48 ч.	через 72 ч.
0,00	15,27	277,50	417,50	407,50	0,1	0,8	1,3	1,6
0,001	15,27	105,00	271,26	288,75	0,1	0,4	1,1	1,5
0,003	15,27	57,75	170,00	280,00	0,1	0,2	0,8	1,3
0,005	15,27	20,00	71,50	126,25	0,1	0,1	0,5	0,9
0,01	15,27	7,12	25,75	50,50	0,1	0,1	0,25	0,5
0,03	15,27	8,20	12,40	10,13	0,07	0,07	0,07	0,07
0,05	15,27	7,65	11,25	9,55	0,05	0,05	0,05	0,05
0,1	15,27	8,17	10,05	10,00	0,05	0,05	0,05	0,05
0,2	15,27	7,32	7,75	9,95	0,00	0,00	0,00	0,00

ствующие 0,005 и 0,01%, или совсем не задерживали размножения бактерий или же угнетали его лишь за первые сутки опыта. Это можно было заметить как по нарастанию кислотности в среде, так и по количеству бактериальных клеток. Так, например, в среде, содержащей 0,005% антисептика, за первые сутки кислотность равнялась 0,35°, а количество бактерий в 1 мл составляло 210 млн., а после 48 часов кислотность увеличилась до 1,0° и количество бактерий до 369 млн.

Влияние пентахлорфенолята натрия на размножение уксуснокислых бактерий. В состав микрофлоры зеленого солода часто входят, наряду с молочнокислыми бактериями, также и уксуснокислые бактерии. Поэтому весьма важно установить влияние указанного антисептика на чистую культуру бактерий. С этой целью антисептик применялся в различных концентрациях, варьировавшихся в пределах от 0,002 до 0,1%. При этом было установлено, что минимальная концентрация пентахлорфенолята натрия, соответствующая 0,002%, судя по нарастению кислотности субстрата, не всегда угнетает размножение уксуснокислых бактерий, тогда как антисептик, вносимый в среды в количестве 0,005%, практически полностью задерживает развитие бактерий; кислотность среды, определяемая ежесуточно в течение трех дней, составляла 0,1—0,13 и 0,15° против кислотности среды, соответствующей 0,25—3,10 и 5,0° в контрольном опыте. Концентрация антисептика 0,05 и 0,1%

Таблица 2

Влияние пентахлорфенолята натрия на размножение уксуснокислых бактерий

Концентрация антисептика в %	Номера опытов							количество бактериальных клеток в 1 мл в млн.
	1	2			3			
	кислотность в °Д через							
	66 ч.	24 ч.	48 ч.	72 ч.	24 ч.	48 ч.	72 ч.	
0.	0,25	0,10	0,55	3,10	0,10	0,65	5,0	8,60
0,002	0,25	—	—	—	0,07	0,10	0,10	—
0,005	0,15	0,10	0,13	0,15	0,07	0,05	0,10	—
0,01	0,10	—	—	—	0,05	0,05	0,10	1,35
0,05	0,10	0,10	0,10	0,15	0,02	0,05	0,05	—
0,1	—	0,10	0,10	0,10	0,02	0,05	0,05	Единичные колонии

совершенно задерживали размножение уксуснокислых бактерий. Бактериальные клетки посевной культуры склеивались между собой в «комочки», и их жизнедеятельность даже на третьи сутки опыта не проявлялась; кислотность среды совершенно не изменялась (табл. 2).

В среде, содержащей 0,05% пентахлорфенолята натрия или 0,1% трихлорфенолята натрия, совершенно прекращается жизнедеятельность маслянокислых бактерий, и кислотность за 67 часов опыта не изменялась и соответствовала 0,04 и 0,01°.

Действие полихлорфенолятов натрия на микрофлору зеленого солода. Если постоянным и основным источником инфекции в бродильном производстве является солод, то последний должен в первую очередь и надежно обеззараживаться антисептиком. Следовательно, вопрос о борьбе с потерями в производстве, особенно в летнее время, сводится к борьбе с инфекцией и к подысканию таких антисептиков и форм их применения, которые позволили бы или совершенно обеззаразить зеленый солод, или обеспечить уменьшение его микрофлоры до минимального количества.

Антисептические свойства полихлорфенолятов натрия испытывались при концентрации их в растворе от 0,05 до 0,5%. Солод, предварительно обеззараженный растворами антисептиков, переводился в стерильное сусло на самозакисание. При этом было установлено, что трихлорфенолят натрия, употребляемый в концентрациях 0,4 и 0,5%, показал наилучший эффект. После 48 часов самозакисания предварительно дезинфицированного солода кислотность сусла составляла 0,4°, в то время как в сусле контрольных опытов она равнялась 0,9—1,2° (табл. 3). Примерно такие

Таблица 3

Обеззараживание зеленого солода полихлорфенолятами натрия

№ опыта	Антисептик	Концентрация антисептика в %	Продолжительность выдерживания в мин.	Кислотность при самозакисании через		
				24 часа	48 ч.	72 ч.
1	Без антисептика	0	30	1,0	1,2	1,2
	Трихлорфенолят натрия	0,1	30	0,3	1,0	1,3
	То же	0,2	30	0,1	0,8	1,2
	»	0,4	30	0,1	0,4	0,7
2	Без антисептика	0	25	0,8	0,9	
	Трихлорфенолят натрия	0,01	25	0,8	0,9	
	То же	0,05	25	0,8	0,9	
	»	0,5	25	0,18	0,4	
3	Без антисептика	0	30	1,0	1,2	1,2
	Трихлорфенолят натрия	0,1	30	0,2	0,7	0,9
	То же	0,2	30	0,1	0,65	1,3
	»	0,4	30	0,1	0,35	0,7
4	Без антисептика	0	30	1,0	1,2	1,2
	Пентахлорфенолят натрия	0,1	30	0,2	0,4	0,5
	То же	0,2	30	0,1	0,4	0,4
	»	0,4	30	0,1	0,3	0,4
5	Без антисептика	0	40	0,8	0,9	
	Пентахлорфенолят натрия	0,05	40	0,4	0,66	
	То же	0,1	40	0,3	0,46	
	»	0,5	40	0,18	0,4	

же результаты по кислотообразованию были получены и при испытании тетрахлорфенолята натрия, тогда как пентахлорфенолят натрия оказался более бактерицидным веществом, чем другие антисептики этой группы. Растворы пентахлорфенолята натрия, соответствующие 0,2—0,4 и 0,5%-ным концентрациям, в значительной степени угнетали жизнедеятельность кислотообразующих бактерий. Так, например, после самозакисания, длившегося в течение 24 часов, кислотность сусла составляла 0,1—0,18°, а после 48 и 72 часов она равнялась 0,3—0,4°. И даже более низкие концентрации антисептика, а именно 0,1%, также обеспечивают относительно хорошую стерильность солода. Если нарастание кислотности сусла и имело место, то оно было незначительным (0,2—0,3°) и допустимым в практике производства (табл. 3).

Стерильность солодового молока, получаемого в результате весьма тонкого измельчения и смешивания с водой солода, обеспечивается еще более низкими концентрациями антисептика, чем при обеззараживании зеленого солода. Так, например, 0,03—0,05%-ные растворы антисептика достаточны для полной стерильности солодового молока. Если после 24-часового самозакисания его кислотность равнялась 0,2—0,3°, то по истечении 48 часов она составляла 0,3—0,4°.

Наряду с пентахлорфенолятом натрия испытанию подвергались трихлор- и тетрахлорфенолят натрия.

Бактерицидное действие трихлорфенолята натрия было в два раза слабее, чем у пентахлорфенолята натрия, как при обеззараживании солодового молока, так и при дезинфекции солода. Кислотность сусла при самозакисании солодового молока, предварительно обеззараженного 0,05%-ным раствором пентахлорфенолята натрия, была такой же, как при применении 0,1%-ного раствора трихлорфенолята натрия (табл. 4).

Таблица 4

Изменение кислотности солодового молока, выдержанног в течение 30 минут в растворах полихлорфенолятов натрия и перенесенного в стерильное сусло (кислотность в °Д)

Антисептик	Концентрация антисептика в %	Кислотность		
		начальная	через 24 часа	через 48 ч.
Без антисептика	0	0,1	0,9	1,2
Пентахлорфенолят натрия	0,01	0,1	0,5	0,8
	0,02	0,1	0,35	0,5
	0,03	0,1	0,4	0,4
	0,05	0,1	0,2	0,3
	0,10	0,1	0,2	0,3
Без антисептика	0	0,1	0,9	1,2
Трихлорфенолят натрия	0,01	0,1	0,9	1,0
	0,02	0,1	0,8	0,9
	0,05	0,1	0,4	0,8
	0,10	0,1	0,2	0,3
	0,20	0,1	0,1	0,2

Кроме того, было установлено, что пентахлорфенолят натрия, употребляемый в различных концентрациях (0,005—0,1%), не оказывает отрицательного действия на амилазную активность солода.

Бактерицидность пентахлорфенолята натрия в сравнении с другими антисептиками. Для сравнения бактерицидности пентахлорфенолята натрия с другими различными антисеп-

тиками, наиболее широко применяемыми в бродильном производстве, проводилась дезинфекция зеленого солода с последующим переводом его в стерильное сусло на самозакисание.

Растворы антисептиков брались в двух концентрациях: 0,2 и 0,4%. Дозы в 0,2 являются оптимальными концентрациями для испытываемых антисептиков. За критерий оценки антисептика бралась кислотность сусла, определяемая за каждые сутки в течение двух дней. Полученные результаты наглядно представлены на рис. 1.

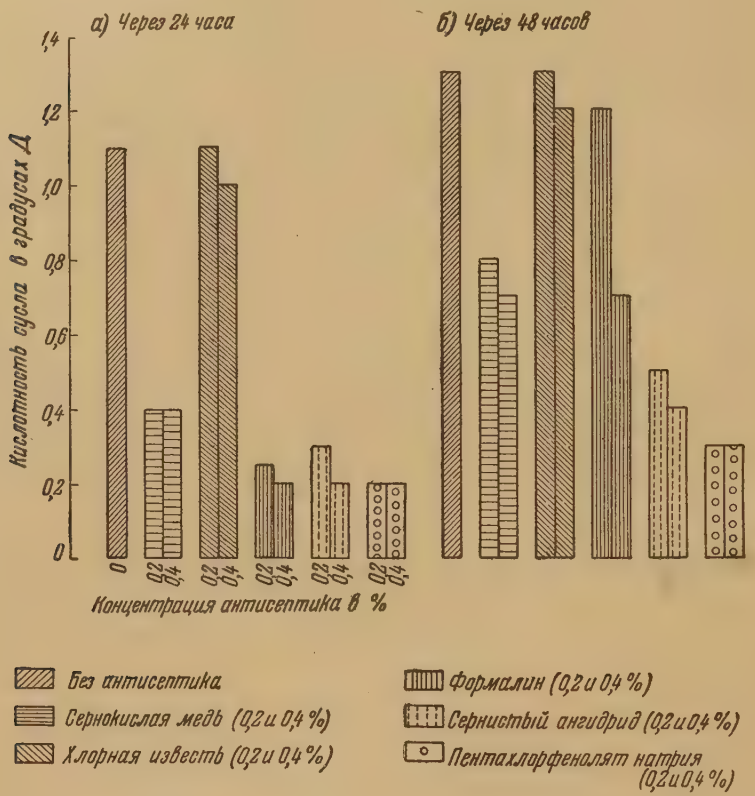


Рис. 1. Бактерицидность пентахлорфенолята натрия в сравнении с другими антисептиками (кислотность в градусах Д)

Наилучшим антисептиком оказался пентахлорфенолят натрия. По силе действия на микрофлору солода в процессе его самозакисания антисептики можно расположить по убывающему ряду следующим образом:

1. По действию через 24 часа: 1) пентахлорфенолят натрия, 2) формалин, 3) сернистая кислота, 4) сернокислая медь, 5) хлорная известь;

2. По действию через 48 часов: 1) пентахлорфенолят натрия, 2) сернистая кислота, 3) сернокислая медь, 4) формалин, 5) хлорная известь.

Следовательно, лучшим антисептиком оказался пентахлорфенолят натрия, следующим по бактерицидности идет сернистая кислота; формалин проявил хорошие антисептические свойства лишь за первые сутки самозакисания; на вторые сутки опыта сусло имело уже высокую кислотность. Это объясняется тем, что формалин относится к группе антисептиков поверхностного действия, в силу чего угнетались бактерии только расположенные на поверхности зерна.

Выводы

1. Пентахлорфенолят натрия является весьма эффективным антисептиком против кислотообразующих бактерий.

2. Данный антисептик, вносимый в среды даже в минимальных концентрациях (0,001—0,003%), заметно угнетает жизнедеятельность молочнокислых и уксуснокислых бактерий. Концентрации его в 0,01% и выше практически прекращают размножение бактерий; кислотность среды остается при этом без изменения.

3. Пентахлорфенолят натрия может быть применен в качестве дезинфецирующего средства для солода. При обработке зеленого солода 0,1—0,2%-ным раствором антисептика в течение 30 минут уничтожается вся вредная бактериальная микрофлора солода. Для обеззараживания солодового молока требуются 0,01—0,03%-ные растворы пентахлорфенолята натрия. При этом амилолитическая способность солода не снижается.

4. Наиболее токсичным веществом по отношению к кислото-образующим бактериям является пентахлорфенолят натрия как по сравнению с другими полихлорфенолятами натрия, так и с антисептиками, применяемыми в бродильном производстве.

Всесоюзный научно-исследовательский институт спиртовой промышленности
Москва

Получено 18.VII. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вашков В. И. (под редакцией). Организационно-методические материалы по дезинфекции, дезинсекции и дератизации. Медгиз, М. 1950.
2. Гандельсман Б. И., Рокицкая М. С. и Тимонич О. П. Пентахлорфенолят натрия как новый бактерицид. Тр. Центр. научно-иссл. дезинфекционного ин-та, № 4, 24, 1948.
3. Дрель-Гитис Е. Е. и Штернлихт Ф. И. Микрофлора солода при пневматическом соложении. Отчет научно-иссл. сектора по спирту Киевского химико-технологич. ин-та пищевой пром-сти им. Микояна, 1936.
4. Маравин Л. Н. Обеззараживание зерна и солода в спиртовом производстве. Снабтехиздат, М. 1934.
5. Силищенская О. М. Изучение микроорганизмов, вредных спиртовому производству, и изыскание методов борьбы с ними. Отчет Всес. Научно-иссл. ин-та спиртовой пром-сти, 1939.

ВЛИЯНИЕ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЙНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ДРОЖЖИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ

Л. И. Комарова

Для спиртового производства является желательным нахождение такого антисептика, который задерживал бы развитие инфекции в бражке, не угнетая деятельности дрожжей. С этой целью нами было испытано влияние четвертичных аммонийных соединений на дрожжи при различных условиях. Эти вещества известны, как сильные антисептики.

В литературе описано действие данных антисептиков на дрожжи. Так было установлено, что цефироль является эффективным антисептиком, который может быть применен в спиртовой промышленности. При внесении его 3—4 мг на 100 мл фильтрованного сусла бражка почти полностью предохраняется от закисания. При сбраживании нефильтрованных заторов эффективная доза антисептика резко возрастает.

Мейсель и Уманская [1] установили, что четвертичное аммонийное соединение катионного типа — цетилцефироль резко угнетает дыхательную функцию дрожжеподобных организмов. Бродильная функция этих организмов угнетается в меньшей степени, однако интенсивность брожения падает уже при концентрации цетилцефироля 1 : 100000. Авторами было установлено, что под влиянием данного соединения происходит изменение ядра, цитоплазмы и хондриосом у дрожжеподобных организмов. Севаж и Росс (Sevag a. Ross [2]) нашли, что четвертичные аммонийные соединения (детергенты) угнетают обмен веществ у дрожжей.

В своей работе по выбору антисептика для спиртовой промышленности мы испытывали, наряду с другими веществами, действие детергентов на дрожжи при различных условиях [1].

Методика работы

Работа производилась с дрожжами Saccharomyces cerevisiae XII раса. Посевная культура дрожжей предварительно культивировалась в стерильных условиях на пивном сусле. Перед посевом дрожжей в среду вносился раствор детергентов в нужной концентрации. В некоторых случаях в среду, кроме дрожжей, вносили инфекцию в виде закисшей бражки.

Динамика брожения учитывалась по выделению углекислоты. В процессе брожения дрожжи микроскопировались. Спирт в бражке определялся по методу Мартена, а несброженный сахар — по методу Бертрана. Подсчет клеток производился в камере Тома.

Влияние детергентов на дрожжи

Опыты с цетилпиридиниум бромидом и цетилцефиролем показали, что данные антисептики являются очень ядовитыми как для дрожжей, так и для бактерий. При концентрации 0,1—0,05% этих веществ ни дрожжи, ни бактерии в пивном сусле не развиваются. При концентрации 0,01% наблюдается лишь очень слабое брожение (рис. 1). При концентрации 0,005% цетилпиридиниум бромида в пивном сусле брожение протекает также очень плохо. При концентрации 0,001% брожение протекает, но значительно хуже, чем в сусле без антисептика. Даже при наличии в сусле 0,0005% цетилпиридиниум бромида скорость брожения заметно падает

[1] Препараты детергентов — цетилцефироль и цетилпиридиниум бромид были любезно нам предоставлены для работы проф. Першиным (ВНИХФИ).

Таблица 1

Влияние антисептиков на сбраживание фильтрованных и нефильтрованных заторов

(При посеве внесено 12000 дрожжей на 1 мм³)

№ опыта	№ сосуда	Среда	Антисептик	Количество антисептика на 100 мл в г	CO_2 в г на 100 мл, дни брожения 1	CO_2 в г на 100 мл, дни брожения 2	Количество дрожжей в 1 мм³ бражки в тыс.
1	1	Пивное сусло плотностью 16°	Цетилпиридиниум бромид	Контроль	4,24	4,50	68,5
	2			"	4,22	4,43	66,8
	3			0,05	0	0	12,5
	4			0,01	0,02	0,08	14,0
	5			0,005	0,34	0,58	16,2
	6			0,002	2,12	3,60	24,0
	7			0,001	2,72	3,96	36,8
	8			0,0005	3,62	4,28	59,6
	9		Цетилцефироль	0,05	0	0	12,1
	10		"	0,01	0,14	0,58	15,0
	11		"	0,002	3,45	3,78	34,8
2	1	Нефильтрованный затор плотностью 16°	Цетилпиридиниум бромид	Контроль	4,12	5,20	102,6
	2						
	3		" "	"	4,08	5,12	101,2
	4		" "	0,050	2,68	5,00	92,6
	5		" "	0,025	3,85	5,12	98,2
	6		" "	0,010	4,06	5,15	100,0
			Цетилцефироль	0,010	3,85	5,12	101,0

по сравнению с контролем (табл. 1). Действие цетилцефироля на дрожжи аналогично действию цетилпиридиниум бромида. Падение скорости брожения наблюдается при концентрации 0,001% цетилцефироля.

Внешний вид дрожжей, развивающихся на сусле с детергентами, резко отличается от внешнего вида контрольных дрожжей. Уже при наличии

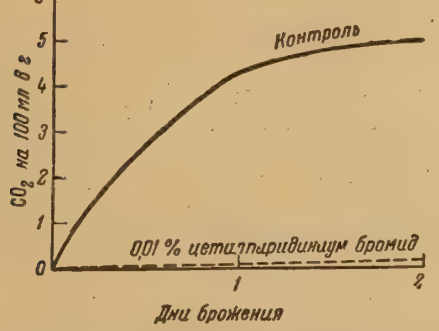


Рис. 1. Влияние антисептика на брожение фильтрованного сусла

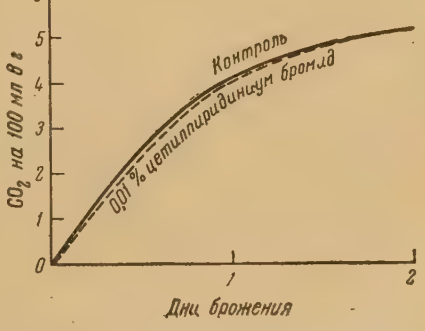


Рис. 2. Влияние антисептика на брожение нефильтрованного затора

в сусле 0,0005% цетилпиридиниум бромида в культуре появляются мелкие клетки. Количество клеток меньше, чем в контроле. При концентрации 0,001% цетилпиридиниум бромида размножение дрожжей резко задерживается. При концентрации 0,002% цетилпиридиниум бромида размножение дрожжевых клеток почти прекращается.

При добавлении антисептиков в нефильтрованные заторы вредное действие антисептиков на дрожжи снижается (рис. 2). Так, при внесении

0,05% цетилпиридиниум бромида в нефильтрованный затор брожение протекает еще довольно энергично, в то время как при сбраживании фильтрованного сусла брожение и размножение клеток при этой концентрации антисептика полностью отсутствует. Размножение дрожжей на нефильтрованных заторах при данной концентрации протекает относительно хорошо.

Снижение эффективности антисептиков в нефильтрованных заторах следует объяснить адсорбцией их на поверхности белковых частиц.

Влияние антисептиков на сбраживание инфицированных заторов

Основной задачей нашего исследования было найти такие концентрации антисептиков, которые бы не замедляли процесса брожения, но в то же время подавляли бы развитие инфекции в бражке. Поэтому в следующей серии опытов мы испытали влияние детергентов на дрожжи и бактерии одновременно.

Эти опыты показали (табл. 2), что при сбраживании инфицированных фильтрованных сусел достаточно концентрации 0,0005%—0,001% цетилпиридиниум бромида и цетилцефироля для того, чтобы развитие инфекции

Таблица 2

Влияние антисептиков на сбраживание инфицированных сусел

(Среда пивное сусло плотностью 15,8°; внесено 10% дрожжей)

№ опыта	№ колбы	Инфекция закисшей бражкой в мл	Наименование антисептика	Количество антисептика в г на 100 мл	CO_2 в г на 100 мл — дни брожения 1	2	3	Кислотность бражки в° Д
1	1	Не вносилась	Не вносился	Контроль	2,80	3,86	4,46	0,35
	2	5	Не вносился	„	2,56	3,85	4,38	1,49
	3	5	Цетилпиридиниум бромид	0,005	0	0	0,32	0,42
	4	5	„	0,002	0,52	1,20	2,10	0,88
	5	5	Цетилцефироль	0,01	0	0,05	0,14	0,35
	6	5	„	0,002	0,50	1,54	3,45	0,70
2	1	Не вносилась	Не вносился	Контроль	3,34	4,17	Определение не проводилось	0,50
	2	2	„	„	3,47	4,10		1,06
	3	2	Цетилпиридиниум бромид	0,002	0,45	1,44		0,46
	4	2	„	0,001	2,3	3,84		0,60
	5	2	„	0,0005	3,61	4,41		0,64
	6	2	Цетилцефироль	0,001	3,45	4,25		0,74

полностью подавлялось, а брожение протекало достаточно энергично. Кислотность при этом повышалась очень мало и она была значительно меньше, чем в инфицированной бражке без антисептика. При повышении концентрации антисептиков до 0,002% и выше брожение почти полностью подавлялось. Инфекция при данных концентрациях антисептика также не развивалась. При сбраживании нефильтрованных заторов эффективная концентрация антисептика возрастала до 0,05% (табл. 3).

Брожение при этом в присутствии антисептика протекало также энергично, как в контроле. Повышение кислотности не наблюдалось. В поле зрения были видны единичные палочки, в то время как в бражке без антисептика все поле зрения было усыпано бактериальными клетками.

Таблица 3

Сбраживание нефильтрованного затора в присутствии антисептика

(Объем сбраживаемого затора 5 л; срок брожения 2 дня)

Затор	Антисептик в г на 100 мл	Плотность бражки в ° Балг.	Кислотность в °Д	Количество бактерий в бражке
Нормальный затор . . .	Нет	2,5	0,65	В поле зрения 2—3 палочки
Инфицированный затор .	Нет	3,7	1,5	В поле зрения 100—120 палочек
То же	0,05	2,7	0,7	В поле зрения 4—5 палочек

Данный опыт позволяет считать, что для подавления инфекции при сбраживании нефильтрованных заторов на спиртовых заводах достаточно применять 0,05% цетилпиридиниум бромида.

Влияние количества дрожжей и перемешивания на токсическое действие антисептика

После установления эффективных доз детергентов мы провели опыты по изучению влияния этих веществ на процесс спиртового брожения при посеве различного количества дрожжей. Этими опытами было установлено (табл. 4), что при посеве большого количества дрожжей вредное

Таблица 4

Влияние антисептика на брожение при различном количестве дрожжей

(Пивное сусло плотностью 17°)

№ сосуда	Количество дрожжей в начале опыта в 1 мм³ в тыс.	Количество цетилпиридиниум бромида в г на 100 мл	CO_2 в г на 100 мл			Спирт	Глюкоза после гидролиза	Количество дрожжей в 1 мм³ бражки в тыс.
			дни брожения					
			1	2	3	в г на 100 мл бражки		
1	5	Нет	2,5	4,30	4,83	5,25	3,55	62,5
2	5	0,001	0	0,05	1,85	3,78	5,56	30,0
3	35	Нет	4,4	4,85	5,2	5,61	3,01	65,4
4	35	0,001	2,0	3,40	4,2	4,92	4,35	52,6

действие антисептиков снижается. Так, при посеве достаточно большого количества дрожжей брожение сусла, содержащего 0,001% цетилпиридиниум бромида, протекает довольно энергично, в то время как при посеве малого количества дрожжей брожение почти полностью подавляется. Особенно сильно антисептик задерживает первую стадию брожения, когда дрожжей в бродящем сусле еще мало и скорость естественного перемешивания невелика. В дальнейшем скорость брожения постепенно нарастает, хотя конечная степень сбраживания и не равна той, которая наблюдается в сусле без антисептика.

Эти данные позволили нам предположить, что снижение скорости брожения при внесении в среду антисептика обусловливается не только специфическим вредным действием данного соединения на дрожжи, но и тем, что при наличии в среде антисептика скорость естественного перемешивания, способствующего питанию дрожжей, резко падает.

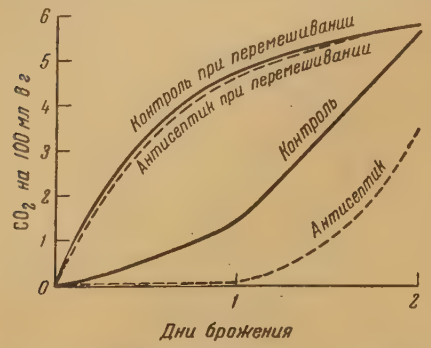


Рис. 3. Влияние антисептика на брожение при перемешивании (цетилпиридинум бромид 0,0005%)

Следовательно, при большом количестве дрожжей вредное действие антисептика снижается не только в силу отбора дрожжей, но и в силу того, что клетки в этих условиях в меньшей степени подвергаются действию продуктов реакции и обильнее снабжаются питательными веществами, чем при более слабом естественном перемешивании, которое наблюдается при посеве малого количества дрожжей.

Для проверки данного предположения мы испытали действие антисептика на дрожжи при механическом перемешивании.

При этом было установлено (табл. 5), что вредное действие антисептика на дрожжи действительно значительно снижается при перемешивании. Так, при внесении 0,0005—0,001 г цетилпиридиниум бромида в 100 мл сусла замечается заметное снижение бродильной энергии дрожжей. При перемешивании бродящего сусла эти же дозы антисептика почти не тормозят процесса брожения и размножения клеток (рис. 3).

Таблица 5

Влияние антисептика на сбраживание сусла при перемешивании

(Цетилпиридиниум бромид)

№ опыта	№ колбы	Среда	Количество антисептика в г на 100 мл	Условия опыта	CO_2 в г на 100 мл, дни брожения 1	2	3	Количество клеток в 1 мм³ бражки в тыс.
1	1	Пивное сусло 16,7° Балг.	Без антисептика	Без перемешивания	1,55	5,65	5,65	82,6
	2	„	0,0005	„	0,03	3,50	3,50	62,4
	3	„	Без антисептика	При перемешивании	4,65	5,67	5,67	102,0
	4	„	0,0005	„	4,50	5,69	5,69	100,5
2	1	Пивное сусло 16,5° Балг.	Без антисептика	Без перемешивания	3,34	4,17		75,0
	2	„	0,0020	„	0,45	1,44		52,5
	3	„	0,0010	„	2,30	3,84		53,6
	4	„	Без антисептика	При перемешивании	5,78	6,22		102,2
	5	„	0,0020	„	1,00	6,22	Определения не проводились	96,6
	6	„	0,0010	„	5,40	6,36		92,5
3	1	Пивное сусло 17° Балг.	Без антисептика	Без перемешивания	2,62	5,24		44,0
	2		0,001	„	1,38	2,76		24,0
	3	„	Без антисептика	При перемешивании	3,33	6,66		80,0
	4	„	0,001	„	3,12	6,24		72,0

Поскольку при брожении возникает естественное перемешивание, интенсивность которого зависит от эффективной скорости брожения, постольку можно предполагать, что видимое замедление брожения при внесении в среду антисептика является результатом суммарного действия двух отрицательных факторов: вредного действия антисептика и замедленного подвода к клеткам питательных веществ.

Выводы

1. Эффективными дозами цетилпиридиниум бромида и цетилцефироля, задерживающих развитие инфекции при сбраживании дрожжами фильтрованных сусел являются концентрации 0,0005%.
2. Концентрация детергентов 0,001% заметно задерживает размножение дрожжей и брожение. Концентрация 0,002% почти полностью подавляет процесс размножения дрожжей и процесс брожения.
3. При сбраживании нефильтрованных заторов эффективная доза антисептика возрастает до 0,05%. При данной концентрации цетилпиридиниум бромида брожение заторов протекает нормально, развитие же инфекции почти полностью подавляется.
4. При посеве большого количества дрожжей и при перемешивании вредное действие антисептиков на дрожжи снижается. Снижение вредного действия антисептика при перемешивании можно объяснить тем, что при бурном естественном и искусственном перемешивании клетки более обильно снабжаются питательными веществами.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт спиртовой
промышленности
Москва

Получено 25.X.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мейсель М. Н. и Уманская В. П. О механизме действия на микробную клетку четвертичных аммонийных соединений, Микробиология, XVIII, 11, 1949.
2. Sevag M. a. Ross O. Studies on the mechanism of the inhibitory action of cephiran on yeast cells. J. Bact., 48, 677, 1944 .

ЭЛЕМЕНТАРНЫЕ ТЕЛЬЦА ПРИ МОЗАИЧНОЙ БОЛЕЗНИ ЛУКА

В. А. Смирнова

Многочисленными исследованиями доказано, что встречающиеся при вирусных заболеваниях животных и растений внутриклеточные включения — Х-тела — часто концентрируют в себе частицы вируса, обуславливающего заболевание.

Частицами вирусов, патогенных для животных, принято называть элементарные тельца, обнаруживаемые под оптическим микроскопом. Вероятно, в результате того, что многие вирусы, патогенные для растений, известны в виде кристаллического белка, а образования, подобные элементарным тельцам, в растительных объектах до сих пор ни разу не были обнаружены, установился взгляд, что все вирусы растений более мелкие, чем вирусы животных и что единицей их является частица вирусного белка — нуклеопротеид.

Против этой общепринятой точки зрения высказывался Рыжков: «Логически представляется мало вероятным, чтобы все вирусы, поражающие животных и человека, так глубоко отличались от всех вирусов, поражающих растения, что частица первых может быть охарактеризована как элементарное тельце, а частица второго, как нуклеопротеид» [4].

Однако до сего времени это резкое разграничение существует и, будучи завершено Холмсом (Holmes [13]), его систематикой вирусов, где он делит их на 3 группы: вирусы животных, растений и бактерий, поддерживается новейшими работами не только данного автора, но Эндрюсом (Andrewes [10]) и рядом других.

Против такого механистического деления снова резко выступает Рыжков, указывая, что оно противоречит принципам систематики и не отражает этапов эволюции вирусов. Он полагает, что «...дальнейшие работы в области изучения вирусов приведут к более единой картине, так как между вирусными болезнями животных и растений много сходства» [5].

Такое предположение Рыжков подтверждает и своими собственными наблюдениями над строением Х-тел при мозаичной болезни лука, описанной им совместно с Вовком в 1937 г. [3].

Рыжков обратил внимание на то, что частицы, находящиеся в этих телах, имеют определенную форму и приблизительно одинаковые размеры, чем весьма напоминают элементарные тельца, характерные для вирусов животных. В данной работе приводятся дальнейшие исследования этих образований.

Прижизненные наблюдения Х-тел в эпидермисе мозаичного лука позволили обнаружить мелкие округлые частицы, резко преломляющие свет, заключенные в гомогенную массу Х-тела.

После фиксации по Карнуа, окрашивание по Гимза дало возможность рассмотреть внутри окрашенных в розовый цвет Х-тел большое количество телец более темных. Тельца эти имеют форму шариков около 0,2—0,3 μ в диаметре. Часто встречаются слегка вытянутые экземпляры, как бы короткие палочки с округлыми концами. Иногда они имеют более или менее короткую перетяжку посередине, принимая бисквитообразную форму. Эти вытянутые и двойные формы очень похожи на фигуры деления. Иногда наблюдаются короткие тяжи, образующие петли. Малый размер телец не позволяет детально изучить их морфологию в световом микроскопе, но в рыхлых Х-телах, где частицы лежат свободно, описанные формы можно было видеть довольно отчетливо (рис. 1).

Наблюдаемые нами включения внутри Х-тел мозаичного лука весьма сходны с описанными Туревичем [9] элементарными тельцами при эктромелии мышей. При этой болезни также встречаются формы шаровидные, вытянутые, двойные и цепочки из отдельных шариков. Кроме того Х-тела в мозаичном луке в некоторых отношениях ведут себя подобно Х-телам при упомянутом заболевании мышей. Так, например, при надавливании на препарат их можно вытеснить из клеток, причем они плавают в воде компактной массой, не разрушаясь. Этим они резко отличаются от Х-тел при мозаике табака, которые по данным Шеффильд (Sheffield [16]), разрушаются при механическом повреждении клетки.

Для сопоставления изучаемых нами телец с элементарными тельцами при вирусных заболеваниях животных, мы провели окраску Х-тел уксуснокислым кармином, рекомендованную Туревичем. При этом частицы внутри Х-тел слегка разбухли и окрасились в темнорозовый цвет, окружающая их строма Х-тела — в слабый желтовато-оранжевый. Подобным образом окрашиваются элементарные тельца при эктромелии мышей, оспе птиц и др. [9].

Окраска препаратов по Фёльгену не обнаружила присутствия тимонуклеиновой кислоты в Х-телах. Рядом с яркокрасным ядром лежали едва заметные Х-тела казавшиеся оптически пустыми, так как при заливке препарата в канадский бальзам зернистость внутри Х-тел перестает резко преломлять свет; повидимому, коэффициент преломления света этих образований близок к 1,5.

Не удалось нам наблюдать и свечения частиц внутри Х-тел добавочным цветом при описываемой окраске в темном поле. На возможность такого свечения при наличии тимонуклеиновой кислоты указывает Туревич [8].

При подкрашивании препаратов, обработанных по Фёльгену, лихтгрюном внутри Х-тел были заметны окрашенные довольно ярко в зеленый цвет зерна, окружающая их строма имела светлозеленый оттенок.

Стремясь избавиться от окружающей тельца стромы Х-тела, мы подвергали препараты эпидермиса больного лука перевариванию пепсином в 0,2% HCl при 37°. Через 2 часа строма Х-тела стала заметно исчезать. тельца сохранились и были хорошо видимы. Через 4 часа строма переварилась нацело, а на месте Х-тела осталась значительная часть телец, которые при этом слегка увеличились.

Окраска нейтральной красной и толуидиновой синью не дала дифференциации внутри Х-тел, они окрашивались соответствующим цветом в одинаковый тон.

Лейкобазой тионина вовсе не удалось окрасить Х-тела. Лейкобаза же метиленовой сини дала внутри неокрашенного Х-тела яркие голубые точки. Повидимому, окислили лейкобазу отдельные тельца, так как окрашенных частиц было меньше, чем должно было бы быть, если бы все тельца внутри Х-тела окрасились.

Известные работы, выявляющие переход Х-тел в кристаллы (Шеффильд [16]) или образование последних под влиянием кислот (Сухов и Вовк [6]), сделали неизбежным исследование Х-тел лука в этом направлении.

Несмотря на то, что при применении кислых фиксаторов, при переваривании в 0,2% HCl мы не получили ни в одном случае кристаллоподобных образований и вообще резких изменений в структуре Х-тела, нами были проведены специальные опыты по влиянию буферных растворов с кислым значением pH на структуры внутри Х-тел.

Эти опыты приведены в табл. 1.

В качестве буферного раствора употреблялась цитратно-фосфатная смесь Мак-Ильвейна.

Состояние включений при различных pH несколько изменялось, но кристаллы не выпали ни в одном случае.

Таблица 1

Изменение телец внутри Х-тел при различных значениях pH

Значение pH	Экспозиция в часах	Наличие кристаллов	Характеристика частиц внутри Х-тел
2,4	2	Нет	Зернистость менее четкая; частицы кажутся мельче, чем обычно
2,8	2	„	То же
2,8	20	„	„
3,2	2	„	Зернистость четкая; частицы намного меньше, чем обычно
3,6	3	„	Частицы нормальной величины
4,0	2	„	То же
4,4	2	„	„
4,8	2	„	„
5,2	2	„	„

Этими опытами, а также фиксацией по Карнуа и уксуснокислым фуксином, совершенно отвергается предположение, что мы принимаем за специфические образования хондриозомы, попавшие внутрь Х-тела, так как известно, что хондриозомы в кислотах растворяются.

Интересно отметить, что при помещении препарата в буферный раствор со значением pH-10, элементы внутри Х-тел разбухают и становятся более четко видимыми. В 15% NaOH они снова уменьшаются в размерах. В 3%-ном растворе соляной кислоты не изменяются.

Применение электронного микроскопа значительно увеличило возможность исследования частиц из Х-тел *. Препараты для этих исследований готовились следующим образом. Замороженные листья больного и здорового лука растирались в ступке с добавлением кварцевого песка или порошка стекла. К полученной кашице добавлялось несколько капель $^1/_{15}$ M Na_2HPO_4 для лучшего растворения слизи и для того, чтобы вызвать разбухание включений в Х-телах. Полученная смесь центрифугировалась в течение часа или больше при 2500 оборотах. Капли из разных фракций надстоящей жидкости ставились на диализ на амилацетатной пленке в чашках Петри, с добавлением в дестиллированную воду 3 капель формалина.

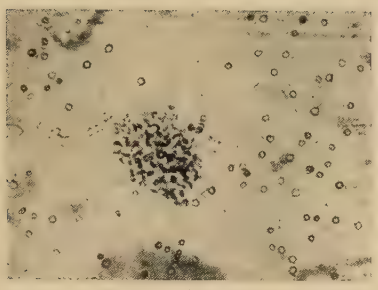
Диализировался материал в течение суток. Диализированная жидкость наносилась на сетку большой каплей. После высушивания препарат подтенялся нихромом.

При просмотре большого количества препаратов больного лука в некоторых из них, преимущественно из нижней фракции центрифугата, мы обнаружили крупные шаровидные образования, которые встречались по одиночке или группами. Величина их колебалась незначительно, диаметр в среднем равнялся, приблизительно 200—250 мμ.

Часто эти тельца были продолговатыми или двойными, иногда складывались по 5—6 штук в короткие цепочки, повторяя характерные фигуры телец внутри Х-тел (рис. 3, 4, 5, 6).

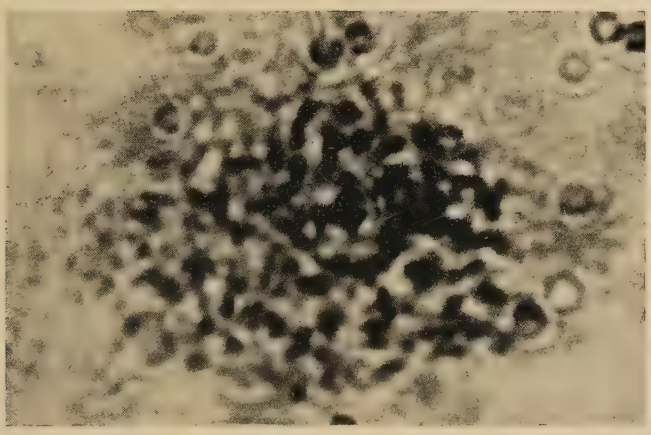
Для сопоставления этих картин с полученными нами раньше под световым микроскопом, мы увеличили фотографическим способом снятую при увеличении в 1 600 раз микрофотографию Х-тела лука (рис. 1) до 7000 раз, т. е. до увеличения, при котором засняты частицы под элек-

* Работы с электронным микроскопом проводились при участии А. М. Золковера, за что приносим ему глубокую благодарность.

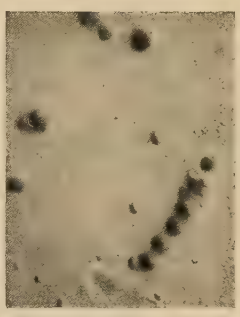


1

3

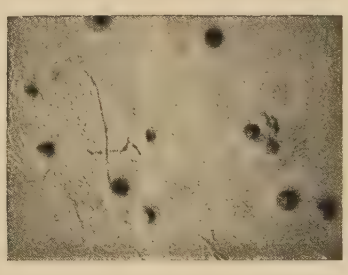


2



5

4



6

Рис. 1. Х тела из клетки эпидермиса. Фиксация по Карнуа, окраска по Гимза Ув. × 1600

Рис. 2. То же Х тело, увеличенное растяжение до × 7000. Видны отдельные шарики, двойные экземпляры и короткие цепочки

Рис. 3 и 4. Группы телец под электронным микроскопом. Ув. × 7000

Рис. 5 и 6. Отдельные экземпляры и «цепочки». Ув. × 7000

тронным микроскопом (рис. 2). Несмотря на малую четкость микрофотографии, вызванную большим растяжением, сходство изображений настолько велико, что трудно сомневаться в их идентичности. Сопоставляя их величину и форму, мы пришли к выводу, что обнаруженные под электронным микроскопом образования не что иное, как тельца из клеточных включений.

Мягкие, слегка расплывчатые контуры этих образований наводят на мысль, что они окружены слизистой массой. Это лучше видно на двойных экземплярах и на «цепочке» (рис. 4, 5). Изредка можно было наблюдать более темное центральное тело в отдельных шариках. Но эти наблюдения требуют проверки.

В большом количестве были просмотрены препараты сока здорового лука. В них описанные образования не встречались.

Наблюдаемые нами тельца в мозаичном луке превосходят по величине известные до сих пор частицы растительных вирусов, имеющие форму шариков.

По данным Брэкс, Блэк и Выков (Brakce, Black a. Wyekoff [12]) вирус желтой карликовости картофеля имеет шаровидную частицу с диаметром приблизительно в 4 раза меньше (около 50 м μ). Частица вируса некроза табака имеет диаметр около 20 м μ (Боуден (Bowden [2, 11]), частицы вируса верхушечного хлороза махорки $\sim$ 40 м μ в диаметре (Сухов [7]), и т. д. Диаметр частицы вируса мозаичного лука, как упоминалось, превышает 200 м μ, такие размеры сближают их с рядом элементарных телец вирусов животных. Элементарные тельца вируса эктромелии мышей, по данным Туревича, стоят на границе видимости светового микроскопа, т. е. диаметр их должен иметь приблизительно 200 м μ. По данным Руска и Кауше (Ruska u. Kaushe [15]) элементарные тельца вируса вакцины достигают в длину 260 м μ, Molluscum contagiosum 255 м μ, эктромелии 252 м μ, миксомы 287 м μ, оспы канареек 311 м μ и т. д. Таким образом обнаруженные Рыжковым частицы в Х-телах мозаичного лука можно с полным правом назвать элементарными тельцами, тем более, что под этим наименованием мы подразумеваем «... частицы вируса настолько крупные, что их можно обнаружить под обыкновенным микроскопом» (Б. С. Э. [1]).

На электронографиях телец лука бросается в глаза их морфологическое сходство с элементарными тельцами ряда вирусов животных. Например, вирус herpes zoster (Рейк, Бланк, (Rake, Blanc) с сотр. [14]), mumps virus (Вейль (Weil) с сотр. [17]) и др. Сходство обнаруживается не только по размерам и форме, но и по характеру расположения телец.

Необходимо отметить, что в редких случаях мы наблюдали тонкие длинные палочки в соке больного лука, похожие на вирусные частицы Х-вируса картофеля или мозаики лилии. В одном случае аналогичные палочки были обнаружены в соке здорового лука.

Выводы

Приведенные исследования позволяют охарактеризовать частицы из Х-тел больного лука следующими показателями:

1. Они фиксируются без заметной деформации формалином, уксусной кислотой при кипячении, кипящим абсолютным спиртом и фиксатором Карнуа.
2. Буферными растворами с кислым значением pH, а также слабыми растворами соляной кислоты не удается перевести их в кристаллы.
3. Эти частицы окрашиваются уксуснокислым кармином, пиронином по Унна, лихтгрюном, железным гематоксилином, метиленовой синькой.
4. Они довольно устойчивы к перевариванию пепсином.
5. Морфологически эти образования весьма сходны с элементарными тельцами некоторых животных вирусов.

6. Наблюдаемые двойные фигуры и цепочки из шариков весьма напоминают фигуры деления элементарных телец.

7. Реакция по Фёльгену отрицательная, однако это не дает еще права категорически утверждать, что в них не содержится тимопуклеиновая кислота, так как далеко не всегда и в элементарных тельцах у животных удавалось обнаружить ее присутствие при помощи этой реакции.

8. Величина описанных телец превышает известные до сих пор частицы вирусов растений шаровидной формы и сближает их по размерам с элементарными тельцами.

Дальнейшие исследования покажут, как далеко простирается сходство элементарных телец лука с элементарными тельцами животных вирусов.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 17.I.1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Большая Советская Энциклопедия. «Вирусы», 8, 156, 1951.
2. Боуден Ф. Вирусы и вирусные болезни растений (перевод), 1952.
3. Рыжков В. Л., Вовк А. М. Новое заболевание лука. ДАН, **16**, № 1, 69, 1937.
4. Рыжков В. Л. Основы учения о вирусных болезнях растений. 1944.
5. Рыжков В. Л. Систематика вирусов в современной литературе. Микробиология, XXI, 458, 1952.
6. Сухов К. С. и Вовк А. М. Паракристаллические включения при мозаике тюльпана. ДАН, L, 485, 1945.
7. Сухов К. С. Вирус верхушечного хлороза махорки. ДАН СССР, LXXXV, № 6, 1381, 1952.
8. Туревич Е. И. Нуклеальная реакция элементарных телец. Бюлл. экспер. биол. и мед., IX, вып. 2—3, 166, 1940.
9. Туревич Е. И. Природа внутриклеточных вирусных включений. Вопросы медицинской вирусологии, вып. 1, 73, 1948.
10. Andrewes C. H. Sind Viruse Organismen? Proc. II. Intern. Poliomyelitis Konf. Kopenhagen, 1951.
11. Bowden F. a. Nixon H. The application of electron microscopy to the study of plant viruses in umpurified plant extracts. J. Gen. Microb., **5**, 104, 1951.
12. Brakce M., Black Z. a. Wyekoff R.. The sedimentation rate of potato yellow dwarf virus. Amer. J. Bot., **38**, 333, 1951.
13. Holmes F. Handbook of phytopatogenic viruses Minneapolis, 1939.
14. Rake G., Blank H., Coriell L., Nagler F. and Scott T. The relationschip of vericella and herpes zoster electron microscope studies. J. Bact., **56**, No. 2, 293, 1948.
15. Ruska H. und Kausche G. A. Über Form, Grössenverteilung und Struktur einiger Virus-Elementarkörper. Ztbl. Bakt., **150**, H. 6, 311, 1943.
16. Sheffield F. M. L. Micrugical studies on virus infected plants. Proc. Roy. Soc., **126**, 529, 1939.
17. Weil M., Beard D., Sharp D., Beard J. etc. Purification pH stability and culture of the mumps virus. J. Immun., 60, N. 4, 561, 1948.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АКТИНОМИЦЕТОВ ПО ОТНОШЕНИЮ К ФИТОПАТОГЕННЫМ ГРИБАМ

Н. И. Петрушова

Изучение антагонистических взаимоотношений между микроорганизмами привело к выделению антибиотиков, нашедших себе широкое применение в медицине. В растениеводстве, за сравнительно короткий промежуток времени, получены ценные данные, показывающие не только наличие микробов-антагонистов к фитопатогенным грибам и бактериям, но и возможность их практического применения для борьбы с болезнями растений [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9]. В качестве антагонистов фитопатогенных грибов изучались главным образом бактерии, в меньшей степени грибы и актиномицеты.

Настоящее исследование имело своей целью изучить антагонизм актиномицетов по отношению к фитопатогенным грибам и наметить пути его практического использования. Выделение актиномицетов производилось из почвенных образцов, собранных в различных местах Крыма. Для выделения мы пользовались агаризованной синтетической средой 1, предложенной Красильниковым [4], несколько измененной по совету Гаузе.

Состав среды: водопроводной воды 1 000 мл; K_2HPO_4 — 3,0 г, KNO_3 — 1,0 г, мела — 0,5 г, сахарозы — 20,0 г, агар-агара — 15,0 г.

Реакция среды нейтральная или слабощелочная.

Из 18 почвенных образцов было выделено 55 штаммов актиномицетов, которые были проверены на антагонизм к Thielaviopsis basicola (Berk) Ferraris — возбудителю корневой гнили табачной рассады и Fusarium sp., вызывающему черную ножку сеянцев цитрусовых культур. Оба эти гриба были избраны в качестве тест-объектов не только в связи с их вредоносностью, но и потому, что значительную часть своей жизни эти грибы проводят в почве, т. е. в той же самой среде, где развиваются актиномицеты. Определение антагонистических свойств актиномицетов велось на картофельно-глюкозном агаре в чашках Петри. Подсев тест-объектов к актиномицетам производился на 3—4-й день роста последних. Культуры выдерживались в термостате при температуре 25°.

Результаты опыта учитывались спустя 7—10 дней после подсева тест-организмов к актиномицетам. В случае подавления актиномицетом гриба около актиномицета образуется зона отсутствия роста шириной от 4 до 35 мм.

Нами изучено 55 культур актиномицетов, которые по своим антибиотическим свойствам по отношению к определенным грибам распределяются следующим образом:

а) подавляют развитие Thielaviopsis basicola и Fusarium sp.	—22
б) » » Thielaviopsis basicola	— 8
в) » » Fusarium sp.	— 1
г) не обладающих антибиотическими свойствами против данных грибов	—24

Из приведенных данных видно, что среди актиномицетов есть способные подавлять развитие указанных фитопатогенных грибов. Действие актиномицетов-антагонистов избирательное. Одни резко подавляли Thielaviopsis basicola, не оказывая никакого действия на Fusarium sp., дру-

гие, наоборот,— подавляли фузариум, не оказывая никакого влияния на возбудителя корневой гнили.

Были поставлены опыты для выяснения возможности использования актиномицетов-антагонистов для борьбы с возбудителем корневой гнили табачной рассады. В качестве антагониста использовалась культура актиномицета 53_1, которая весьма длительный срок сохраняла в культуре свои антигрибные свойства. Почва, взятая для опытов, была предварительно простерилизована при температуре 100° в течение одного часа. Опыты ставились в 4 вариантах:

1) Почва заражалась возбудителем корневой гнили табака Thielaviopsis basicola и поливалась культуральной жидкостью из-под актиномицета 53_1, выращенного на жидкой синтетической среде 4 (Красильников [4]) следующего состава:

Водопроводной воды — 1000 мл, сахарозы — 20 г, KNO_3 — 0,1 г, $MgSO_4$ — 0,05 г, KCl — 0,07 г, KH_2PO_4 — 0,1 г, $Ca(NO_3)_2$ — 0,25 г.

2) Почва заражалась Thielaviopsis basicola и одновременно с грибом в почву вносились споры и мицелий актиномицета 53_1.

3) Почва заражалась Thielaviopsis basicola и ничем не обрабатывалась.

4) Почва не заражалась и не обрабатывалась.

В подготовленную по вышеуказанной схеме почву был произведен посев табака.

Наблюдения показали, что всходы табака в первом и втором вариантах опыта появились на два дня раньше, чем в третьем и четвертом вариантах. Гибель растений в третьем варианте привела к изреживанию всходов, но особенно резко проявилась, когда растения достигли недельного возраста. При этом растения первого, второго и четвертого вариантов остались полностью здоровыми. Окончательный учет результатов опыта, проведенный полтора месяца спустя, показал, что гибель растений в третьем варианте составила 70%; в вариантах, обработанных антагонистом и культуральной жидкостью, так же, как и при посеве в незараженную почву, растения оставались здоровыми.

Таким образом, исследование показало, что актиномицеты-антагонисты могут быть использованы для подавления фитопатогенных грибов. Дальнейшие исследования должны идти по пути выявления новых, еще более активных штаммов актиномицетов-антагонистов.

Выводы

1. Исследование 55 культур актиномицетов, выделенных из крымских почв, показало, что из них 54,5% обладают свойством подавлять возбудителя корневой гнили табака — Thielaviopsis basicola и 41,8% подавляют рост Fusarium sp., вызывающего черную ножку цитрусовых культур.

2. Полученные данные показали, что актиномицеты-антагонисты могут быть успешно использованы в борьбе с фитопатогенными грибами.

3. Внесение в почву, зараженную возбудителем корневой гнили табака, культуры актиномицета 53_1 в виде мицелия или спор, а также культуральной жидкости, полученной при выращивании этого актиномицета на жидкой синтетической среде, предохраняет растения от заболевания.

Государственный Никитский
ботанический сад
им. В. М. Молотова

Получено 5.IX.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березова Е. Ф. Бактеризация семян, как метод борьбы с болезнями льна. Микробиология, VIII, 186, 1939.
2. Гаузе Г. Ф. Антибиотики в борьбе с болезнями растений. Природа, № 6, 105, 1952.
3. Кононенко Е. В. Лизис возбудителя вилта хлопчатника Verticillium dahliae, вызываемый некоторыми миксобактериями. Микробиология, VI, 699, 1937.
4. Красильников Н. А. Актиномицеты-антагонисты и антибиотические вещества. Изд. АН СССР, М., 1950.
5. Красильников Н. А. и Разницына Е. А. Бактериальный метод борьбы с фузариозом сеянцев сосны. Агробиология, № 5—6, 109, 1946.
6. Наумова А. Н. Влияние бактеризации семян на пораженность всходов яровой пшеницы грибными паразитами и на ее урожай. Микробиология, VIII, 198, 1939.
7. Разницына Е. А. Бактериальный метод борьбы с грибными заболеваниями сеянцев сосны. Микробиология, IX, вып. 3, 1942.
8. Худяков Я. П. Литическое действие почвенных бактерий на Fusarium, Микробиология, IV, 193, 1935.
9. Чумаков А. Е. Биологический метод обеззараживания почвы от возбудителя корневой гнили пшеницы Helminthosporium sativum P. K. et B. Сб. тр. Всес. ин-та защиты растений, вып. 3, 58, 1951.

К ВОПРОСУ О ФИЛЬТРУЮЩИХСЯ ФОРМАХ МИКРООРГАНИЗМОВ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗИ С ВИРУСОМ *

Х. Ж. Жуматов

Проблема неклеточных форм у микроорганизмов представляет исключительный интерес в свете новой клеточной теории О. Б. Лепешинской. В данной статье мы хотели бы изложить свои соображения по вопросам, затронутым рядом авторов в журнале «Микробиология» (Кривиский [8]; Калина [9]; Зильбер [7]; Крестовникова [10]).

С момента установления наличия фильтрующихся форм у ряда бактерий было отмечено, что эти формы чаще всего появляются при неблагоприятных условиях для жизни бактерий. Сюда относятся механические воздействия на микробные клетки (растирание, встряхивание и т. д.), физические воздействия (замораживание, оттаивание), действие звуков высокой частоты, плазмолиз в дестиллированной воде, действие биологических факторов (антибиотики, бактериофаг, и др.).

Указанные факторы в какой-то степени повреждают клетки бактерий. Внезапный распад последних можно рассматривать как своеобразную форму приспособления, потому что бактерии продолжают существовать в неклеточном виде после воздействия на них, например антибиотиком, фагом, теплом и холодом. Явление это отмечается при повреждающем действии лишь некоторых факторов, ибо, как правильно указывает О. Б. Лепешинская, «...если бы всякое разрушение клеточных структур приводило только к образованию неклеточного живого вещества, то не существовало бы вообще смерти».

Мы не знаем, с какой частотой образуются неклоточные формы, патогенных микробов в организме человека, животных, в воде и т. д., загрязненных ими. А ведь это имеет практическое значение в борьбе с инфекционными заболеваниями. В связи с вышеуказанным представляют интерес работы Гринбаума и его сотрудников по выделению из воды, послужившей источником заражения брюшным тифом, измененного варианта брюшнотифозной палочки, который замедленно расщепляет глюкозу, почти не агглютинируется антитифозной сывороткой и растет только при температуре 30°. При пассаже данного микроба в сывороточном бульоне он приобрел свойства типичной брюшнотифозной палочки. Этот микроб в воде находился, очевидно, в клеточной стадии, а не в фильтрующейся форме, так как культура была получена из первого же посева воды.

В настоящее время эпидемиологическое значение фильтрующихся форм патогенных микробов остается не выясненным. Методы исследования фильтрующихся форм являются несовершенными и не позволяют быстро обнаружить их в объектах, послуживших источником инфекции.

Метод «кормилок», предложенный Сукневым 20 лет назад, широко применялся для изучения фильтрующихся форм бактерий. Последние выявляются этим методом более регулярно, по сравнению с методами посевов на питательные среды с аэрацией, микрогенерированием по Утен-

---

* Печатается в связи с дискуссией, проводимой журналом «Микробиология» по проблеме неклеточных форм у микроорганизмов. Дальнейший прием дискуссионных статей по данной проблеме прекращен.

кову, пассажем через организм животного. Однако, по мнению Калины, живые микробные кормилки сами могут оказать влияние на направление изменчивости восстанавливаемых вторичных культур. Кроме того, микробы, послужившие средою для подкормки фильтрующихся форм, могут обладать своими собственными фильтрующимися формами, восстановление которых стимулирует рост фильтрующихся форм изучаемого микроба.

Учитывая это, Тимаков, Калина предложили использовать в качестве «кормилок» взвеси убитых микробов или продукты их расщепления, что устраняет отмеченные выше недостатки метода культивирования фильтрующихся форм на живых микробах.

Менее совершенным является также способ пассажей фильтрующихся форм через животный организм, так как невозможно проводить контроль над процессом превращения фильтрующихся форм в бактерийные клетки в сложном организме, в котором широко представлены ассоциации нормальной микрофлоры с их фильтрующимися формами. В этих условиях труднее дифференцировать восстанавливаемую форму микробов от уже существующей.

Изучая фильтрующиеся формы бактерии вышеуказанными несовершенными методами, исследователи получают противоречивые данные. Так, по Кривискому, неклеточные формы у микробов возникают нерегулярно даже при концентрированном действии на них вредных факторов, как растирание и фагирование. Автор находил фильтрующиеся формы у кишечной палочки в 70—80 мл фильтрата, содержавшего до фильтрования не менее 8—16 миллиардов жизнеспособных клеток. В то время как, по данным Калины, только в 1 мл фаголизата культуры кишечной палочки можно обнаружить до 100 млн. неклеточной формы данного микроба.

Как видно, развитие знаний о фильтрующихся формах бактерий задерживается из-за отсутствия надежных методов их культивирования. В последние годы, как это ни странно, почти прекратились исследовательские работы в этом направлении, хотя разговоры о важности проблемы ведутся больше, чем достаточно.

Исследования ряда авторов (Сукнев [19]; Калина [9]; Тимаков [14]; Житова и др. [6]) показали, что вторичная культура, полученная из фильтрующихся форм микроорганизмов, отличается от исходной рядом морфологических и культуральных свойств.

Известно, что первые генерации фильтрующихся форм характеризуются скудным ростом как на плотных, так и в жидких средах.

Разнообразные морфологические проявления переходов бактерий из неклеточной стадии в клеточную наиболее полно представлены в работе Бошьяна [1].

Многими показано, что по своим антигенным и биохимическим свойствам вторичные культуры резко отличаются от исходных.

Стадии развития у разных микроорганизмов, естественно, должны быть различны и зависят они от морфологических и физиологических свойств данного вида микроба. Фильтрующиеся формы, выявляемые в виде зернистых, кокковидных, палочковидных образований, требуют определенные условия для перехода в следующие стадии развития. Без знания этих условий нельзя рассчитывать на успех в работе с живым веществом у микроорганизмов. Мы знаем, что у однолетних растений стадии развития обусловлены их потребностью к определенным условиям внешней среды (свет, температура, влажность). Бактерия, как живая система, для своего развития также требует определенного состава химических веществ, кислотности, температуры среды и пр. Разумеется, рост и развитие бактериальной клетки количественно и качественно ни в какой мере несравнимы с ростом и развитием однолетних растений.

Поэтому речь может идти о специфических особенностях проявления стадийности развития у микроорганизмов. Эти особенности вытекают из

более выраженной их изменчивости и быстрых темпов популяции, измеряемых минутами, часами; из существования микробов в ассоциации или наличия антагонистических взаимоотношений между видами, из различной способности микроорганизмов синтезировать вещества из окружающей среды (автотрофы, гетеротрофы). Все это, естественно, отражается на стадийности их развития. Прав Калина, когда он рассматривает R-форму, дочерние колонии, а также диссоциативные изменения в культуре, как своеобразные проявления стадии развития микробов в их конкретных условиях существования. В связи с этим образование фильтрующихся форм мы представляем себе как частный случай приспособительной изменчивости бактерий. Превращение последних в неклеточную форму совершенно необязательно, например, при оптимально благоприятных условиях для размножения микроорганизмов (температура, соответствующая химическая реакция среды, наличие питательных веществ и пр.) В этом случае потребность микробов в метаболизме покрывается полностью и нет условий (или необходимости) для возникновения в культуре физиологически менее активных фильтрующихся форм.

Фильтрующиеся формы во внешней среде находятся в неактивном состоянии, при попадании в более благоприятные условия они восстанавливаются в вегетативную форму путем реверсии.

Фильтрующиеся формы бактерий отличаются от ультравирусов по способу размножения. В первом случае имеет место превращение неклеточных форм в клеточную форму, во втором — происходит накопление живого (вирусного) белка в цитоплазме и ядре клетки хозяина, что является результатом активного размножения паразита. Указанное принципиальное отличие в воспроизведении себе подобного у вирусов и фильтрующихся форм бактерий характеризует их как продукты эволюции живого вещества, наделенные специфическими свойствами. Положение это признается большинством исследователей, так как убедительных фактов, говорящих о превращении фильтрующихся форм бактерии в вирусы, никем еще не представлено.

В настоящее время бесспорным является то, что через образование фильтрующихся форм происходят качественные изменения (скачок) в биологии микроорганизмов — возникают новые варианты и виды, отличающиеся от исходных по культуральным и серологическим свойствам. В этом состоит перспективность изучения фильтрующихся форм бактерии для теории и практики всех отраслей микробиологии (медицинской, сельскохозяйственной, технической). В частности решение спорных вопросов в области этиологии, эпидемиологии сыпного тифа, брюшного тифа, дизентерии и других инфекций настоятельно требует изучения фильтрующихся форм их возбудителей. В этом отношении, интересны исследования Житовой, Лавровской и Ивановой [6], получившие из фильтрующихся форм дизентерийной палочки Шига дизентерийные палочки Флекснера, а из фильтрующихся форм Флекснера — палочки паратифа «Б».

Специалистам в области медицинской микробиологии хорошо известен тот факт, что за последние полтора-два десятка лет очень изменился типовой и видовой состав дизентерийных микробов, причем почти ежегодно стали открываться все новые и новые их разновидности, участвующие в патогенезе различных форм кишечных расстройств у взрослых и детей. Трудно отрешиться от мысли, что такое изменение в природе возбудителей кишечных инфекций происходит без качественного скачка путем образования новых видов из фильтрующихся форм дизентерийных микробов в организме человека.

Поскольку в указанном процессе, повидимому, принимает участие и бактериофаг, необходимо остановиться на вопросе о взаимосвязи фага с фильтрующимися формами бактерии.

Крестовникова, Журбина и Измайлова [10] рассматривают вирус бак-

терии (фаг) как одну из стадий развития бактериальной клетки. Свою точку зрения авторы пытаются обосновать экспериментальными данными, что в принципе надо приветствовать. Крестовникова и сотрудники изучили с помощью серологических реакций (адсорбции иммунной сыворотки, реакции нейтрализации) антигенные взаимосвязи фагов и гомологичных к ним бактериальных культур. Авторы верно указывают, что иммунологические методы являются наиболее надежными для установления сходства или различия в белковых компонентах фага и бактерий. Кролики были иммунизированы различными фагами, специфичными к штаммам бактерии протея X_{19}, скарлатинозного стрептококка, брюшнотифозной и дизентерийной палочки. Полученные сыворотки сперва истощались соответствующей культурой микроба, затем с истощенной сывороткой ставился опыт нейтрализации бактериофага. Из представленного материала видно, что антисыворотка к фагу протея X_{19} не истощается самой бактерией протея X_{19}, тогда как «микрокультура», полученная из фильтрующихся форм протея X_{19}, полностью адсорбировала антифагин из сыворотки.

Аналогичная закономерность была найдена в опыте со стрептококковым фагом. Антитела к этому фагу извлекались из сыворотки лишь «микрокультурой» (СК), являющейся, по мнению авторов, одной из стадий развития скарлатинозного стрептококка, последний сам по себе также оказался неспособным истощать антисыворотки против своего фага. Следует отметить, что с точки зрения специфичности иммунологических реакций отмеченное явление кажется весьма парадоксальным и нельзя найти ему объяснение. Известно, что фаг взаимодействует с бактерией, а не с ее фильтрующейся формой. Только в живой бактерии фаг размножается, на этой же среде удается усилить его биологическую активность. Следовательно, если фаг имеет антигенное родство с бактерией, то таковое нетрудно было бы обнаружить при серологическом анализе. Тот факт, что микробы только в редких случаях и притом частично извлекают из сыворотки антитела к своему фагу, указывает на автономность их антигенной структуры.

Дальнейшие рассуждения вышеуказанных авторов в пользу общности происхождения фага с происхождением фильтрующихся форм бактерий также основаны на экспериментальных данных. Однако приведенный ими фактический материал вызывает возражения: во-первых, авторы применяли метод односторонней адсорбции антител, тогда как специфичность групповых антигенов может быть доказана только с помощью перекрестного истощения антисыворотки к двум или нескольким антигенам; во-вторых, не проводились опыты с антисыворотками к штаммам «микрокультуры», не ясен вопрос способны ли такие сыворотки нейтрализовать фаг, антигенную близость которого к «микрокультурам» соответствующих бактерий так упорно стараются доказать Крестовникова и ее сотрудники.

Далее. Для получения антифагина авторы иммунизировали кроликов фаголизатом бактерии, в котором, наряду с частицей фага, содержатся продукты лизиса клетки, обладающие антигенными свойствами. Иммунизация животного этой смесью, естественно, влечет за собой продукцию антител как по отношению фага, так и к бактериальному антигену. Эти недостатки в проведении серологического анализа антигенных взаимоотношений фага и бактерий можно было бы устранить путем иммунизации кроликов частицами фага, освобожденными от продуктов лизиса бактерии.

Таким образом, материалы Крестовниковой и сотрудников не выясняют ничего существенного в изучении проблемы стадийности развития бактерии. Авторы вносят только путаницу в трактовке происхождения фага и его взаимоотношения с бактерией. Аналогичное недоразумение, если его можно так называть, имело место недавно и с вирусом скарлатины, «открытым» Фалькович и др. в лаборатории Крестовниковой.

Фалькович, Воронкова и Красильщик [15] описали вирус, который они обнаружили у мышей, зараженных интраназально материалом от скарлатинозных больных (смывы зева, кровь, моча). Авторы утверждают, что сыворотка больных, выздоравливающих от скарлатины, частично нейтрализует данный вирус, поэтому она играет этиологическую роль при этом заболевании. Что касается типа стрептококка, признаваемого большинством исследователей за возбудителя скарлатины, то допускается возможность вирусной стадии существования этого микроба в организме человека. Согласно данным авторов, найденный ими вирус имеет антигенное родство с фильтрующейся формой скарлатинозного стрептококка (микрокультура «СК»). Поэтому они заключают о наличии стадийности в развитии возбудителя скарлатины (вегетативная форма стрептококка, фильтрующаяся форма, т. е. «микрокультура» и вирус).

Приходится, однако, констатировать неубедительность тех фактов, на основании которых Фалькович и др. делают столь ответственные выводы. В сущности вирус, выделенный Фалькович в эксперименте на мышах, не имеет никакого отношения к скарлатине и скарлатинозному стрептококку. В лаборатории Иоффе и нашей, вирус Фалькович тщательно изучался с помощью серологических реакций (реакция связывания комплимента, реакция нейтрализации), а также путем испытания иммунитета с перекрестным заражением вакцинированных мышей.

Опыты проводились с вирусом Фалькович и вирусом пневмотропной эктромелии мышей, обнаруженной мной в 1948 г. В результате всестороннего изучения этих двух агентов была показана их полная идентичность как в антигенном отношении, так и по биологическим свойствам [1].

Совершенно очевидна несостоятельность фактических данных Крестовниковой, Фалькович и др., на основании которых они отстаивают точку зрения об единстве онтогенеза вирусов и фильтрующихся форм бактерий.

И сколько бы мы ни спорили по этому вопросу, в конечном счете дело решает надежный метод исследования и фундаментальность добытых фактов. Это обязывает нас всегда беспристрастно проверять и изучать факты, заслуживающие внимания, тем более в такой малоразработанной области биологии как неклеточные формы жизни и их роли в стадийности развития микроорганизмов.

В деле дальнейшего усовершенствования бактериологической диагностики инфекционных заболеваний с учетом изменчивости их возбудителей перед нашими лабораториями стоят ответственные задачи. Выше мы указывали на кардинальные особенности фильтрующихся форм бактерий, делающих их непригодными для приготовления живой вакцины, диагностикумов и др.

Отсюда следует другая задача, которая заключается в разработке методов регенерации, а также усиления антигенных и биологических свойств фильтрующихся форм бактерий. Это даст возможность использовать вторичную культуру в производстве бакпрепаратов. В настоящее время нельзя назвать хотя бы одного примера использования вторичной культуры в практике. В известной мере это объясняется, как было отмечено выше, несовершенством методических приемов, которыми пользуются исследователи при изучении неклеточных форм микроорганизмов. Для фильтрующихся форм патогенных микробов следовало бы создать те условия, которые они встречают в организме, а именно: контакт с живой клеткой и продуктами их метаболизма. В этом отношении перспективно применение метода тканевой культуры.

[1] Белые мыши являются естественными носителями вируса пневмотропной эктромелии; при дополнительном пассаже их легких на здоровых мышах, этот агент усиливает свою вирулентность, вызывая регулярно пневмонию и гибель животного. Как явствует из описания методики работы Фалькович и сотрудников, по сути дела, они проделывали те же пассажи на мышах, изучая на них скарлатину.

Другим весьма важным приемом работы является культивирование фильтрующихся форм в животном организме по способу вшивания. Опыт проводится следующим образом. В маленький коллоидный мешок, наливается стерильный гипотонический раствор поваренной соли и фильтрат изучаемого микроба. Мешок подшивается под кожей недавно родившегося животного, так как для изученного нами агента взрослые животные оказались непригодными. Через 3—4 дня из содержимого мешка делается посев на сывороточной или кровяной агар, для этой цели используется сыворотка или кровь того же вида животного.

В случае необходимости (отсутствие массового появления микроколоний), материал оставляется в организме значительно дольше или переносится в подкожный очаг свежего животного. Постоянный обмен питательного состава среды и температура тела делают данную среду оптимальной для развития живого вещества у микробов. Этим приемом нам удалось регенерировать фильтрующуюся форму некоторых патогенных бактерий.

Усиление или ослабление свойств патогенных микробов достигается тем легче, чем строже учитываются их потребность в условиях обитания. Именно на этом пути достигнуты были успехи в получении живой вакцины против ряда бактериальных и вирусных заболеваний человека и животных.

Казахский государственный институт
эпидемиологии и микробиологии,
Алма-Ата

Получено 22.VI.1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бошьян Г. М. О природе вирусов и микробов. Медгиз, 1949.
2. Гринбаум Ф. Т. Изменчивость патогенных микробов во внешней среде и организме. Тезисы докладов научной сессии Институтов эпид. и микробиол. Минздрав. РСФСР, Казань, 6, 1951.
3. Гринбаум Ф. Т. Изменчивость патогенных микробов в зависимости от условий их обитания. Тр. конф. по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов. Изд. АН СССР, 1952.
4. Жуматов Х. Ж. Библиогр. и аннот. к работам Отд. вирусологии ин-та экспер. мед. АМН СССР, Изд. ИЭМ, 17—18, Ленинград, 1950.
5. Жуматов Х. Ж. Вирусы и особенности патогенеза вирусных болезней. Вестн. АН КазССР, № 1, 70, 1953.
6. Житова Е. И., Лавровская В. М. и Иванова Н. А. О фильтрующихся формах бактерий. Тезисы докладов научной сессии ин-тов эпид. и микробиол. Минздрав. РСФСР, Казань, 10, 1951.
7. Зильбер Л. А. О природе вирусов и их происхождении. Микробиология, XXII, 81, 1953.
8. Кривиский А. С. О роли фильтрующихся форм в биологии микроорганизмов. Микробиология, XXII, 596, 1953.
9. Калина Г. П. Стадийное развитие микробов — объективная реальность. Микробиология. XXII, 95, 1953.
10. Крестовникова В. А., Журбина В. И. и Измайлова Н. Б. К вопросу о природе фага. Микробиология, XXI, 721, 1952.
11. Лепешинская О. Б. О происхождении клеток из живого вещества и роль живого вещества в организме. Изд. АМН СССР, 1950.
12. Лепешинская О. Б. и Крюков В. Г. О некоторых ошибках в понимании теории развития живого вещества. Изв. АН СССР, серия биолог. 3, 16, 1953.
13. Сукнев В. В. и Фольферец Г. А. Выявление фильтрующихся форм бактерий с помощью «кормилок» из бактериофагных фильтратов и сущность феномена бактериофагии. Вестн. микроб. эпид. и паразит., 11, 239, 1932.
14. Тимаков В. Д. Направленная изменчивость микроорганизмов. Тр. конф. по направленной изменчивости и селекии микроорганизмов, 1951.
15. Фалькович Л. И., Воронкова О. И. и Красильщик Р. Т. К вопросу об этиологии скарлатины. Тр. конф. ин-тов эпид. и микробиол. по проблеме изменчивости микробов, г. Горький, 1949. То же в кн. «Детские инфекции». Тр. Московского обл. ин-та эпид., микробиол. и инфекционных болезней им. И. И. Мечникова, вып. 5 1951.

ПРОМЕЖУТОЧНЫЕ ПЕРЕНОСЧИКИ ВОДОРОДА И ИХ ЗНАЧЕНИЕ В ПРОЦЕССАХ ДЫХАНИЯ

(Обзор)

М. В. Федоров

Дыхание относится к числу важнейших физиологических процессов, постоянно совершающихся в живом организме и определяющих его жизненный темп. Этот процесс необходим живому организму не только как энергетическая основа для всей его жизнедеятельности, но и как основа для получения тех лабильных продуктов распада окисляемого субстрата, которые являются исходным материалом для синтеза новых составных частей протоплазмы.

Столь выдающееся значение дыхания и было, вероятно, одной из причин, побуждавших исследователей так настойчиво изучать закономерности, лежащие в основе этого процесса. В этом небольшом сообщении хотя и не представляется возможным изложить историческое развитие этой главы физиологии, однако следует подчеркнуть, что русские ученые внесли в разработку этого вопроса огромный вклад. С чувством патриотической гордости мы можем отметить, что в разработке процессов дыхания русская биологическая наука давно уже заняла ведущее положение и сыграла руководящую роль. Основоположниками важнейших теорий дыхания являются, как известно, русские ученые: Н. А. Бах, В. И. Палладин, С. П. Костычев, В. С. Буткевич и другие. Благодаря их трудам мы можем теперь нарисовать картину физиологического хода этого процесса с достаточной полнотой.

Единство и различия в физиологическом ходе процессов дыхания

В настоящее время не приходится сомневаться в том, что основное направление окислительного процесса при дыхании связано с мобилизацией водорода окисляемого субстрата и передачей его соответствующему акцептору.

Поскольку в аэробном дыхании, так широко распространенном среди живых организмов, сжигание водорода производится при помощи молекулярного кислорода, то первоначально наиболее важная роль в окислительных процессах и была отведена кислороду. На «активации» молекулярного кислорода была построена широко известная теория биологического окисления Баха (1912) и его учеников (Опарин, 1927).

При дальнейшей разработке этого направления было, однако, выявлено [Варбург (Warburg, 1938, 1946), Кейлин (Keilin, 1925), Фрей (Frei, 1934)], что окислительный импульс, идущий от молекулярного кислорода, передается через посредство геминного фермента и трех цитохромов мобилизованному водороду, отщепляемому от субстрата при помощи дегидраз. Геминный фермент и цитохромы, хотя и имеют сходную химическую структуру и содержат в своем составе атом железа, способный переходить из двухвалентной формы в трехвалентную и обратно, однако с молекулярным кислородом может реагировать только один геминный фермент. Цито-

хромы же реагируют только между собою, что легко установить из следующей схемы:

$$O_2 \rightarrow \underset{\text{гемин-фермент}}{(Fe^{\cdot\cdot} \rightarrow Fe^{\cdot\cdot})} \rightarrow \underset{\text{цитохром I}}{(Fe^{\cdot\cdot} \rightarrow Fe^{\cdot\cdot\cdot})} \rightarrow \underset{\text{цитохром II}}{(Fe^{\cdot\cdot} \rightarrow Fe^{\cdot\cdot\cdot})} \rightarrow$$

$$\rightarrow \underset{\text{цитохром III}}{(Fe^{\cdot\cdot} \rightarrow Fe^{\cdot\cdot\cdot})} \leftarrow \text{промежуточные переносчики} \leftarrow R_2 \leftarrow \text{промежуточные}$$

$$\text{переносчики} \leftarrow R'H_2 \leftarrow \cdots \leftarrow \text{окисляемый субстрат.}$$

Как можно видеть из этой схемы, в геминных компонентах реакции никакого активного кислорода не содержится. В них происходит только перемещение электрона от окисляемого звена к следующему восстанавливаемому звену. Водород же окисляемого субстрата при помощи водородных акцепторов подводится к третьему цитохрому (цитохрому С), в котором атом железа уже находится в трехвалентном состоянии. При взаимодействии с этим цитохромом водород передает ему свой электрон и уходит в окружающую среду в виде протона, а атом железа этого цитохрома, воспринимая этот электрон, переходит в двухвалентное состояние. Это состояние через остальные цитохромы передается геминному ферменту, который и реагирует с молекулярным кислородом. При этой реакции электрон, полученный от водорода, передается геминным ферментом молекулярному кислороду. В результате геминный фермент вновь переходит в окисленное состояние и вновь может повторить всю эту цепь реакций, а кислород реагирует с окисленным водородом и дает воду.

При такой последовательности реакций, как будто, отпадает возможность объяснять окислительный процесс активацией кислорода. Однако такое предположение все же не отвечает действительности, так как ни один из цитохромов не может отдать свой электрон кислороду. Эту функцию выполняет только геминный фермент. Поэтому не приходится сомневаться в том, что реакция между ним и молекулярным кислородом имеет какую-то специфику, пока еще не уловимую нашими методами исследования. А отсюда становится неизбежным и вывод, что активация молекулярного кислорода действительно должна иметь место в окислительном процессе.

Кроме активации молекулярного кислорода во всех окислительных процессах очень важное значение имеет и активация водорода окисляемого субстрата. Она осуществляется при помощи ферментов дегидраз или дегидрогеназ. На значение этой фазы в окислительных процессах указали в свое время Палладин (1907, 1915, 1916), разработавший теорию дыхания, основанную на активации водорода, и Вилянд (Wieland, 1922).

Основное содержание этой теории, подробное изложение которой было недавно приведено в исчерпывающей сводке Львова (1950) и в других его статьях (1924), можно свести к следующим двум уравнениям:

$$1.\ C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 12R = 6CO_2 + 12RH_2$$

$$2.\ 12RH_2 + 6O_2 = 12R + 12H_2O$$

Первое уравнение Палладина показывает, что в начальной фазе процесса имеет место расщепление окисляемого субстрата при помощи воды на углекислоту и активный водород. Главную функцию в этом процессе выполняют ферменты дегидразы (Палладин называл их редуктазами). Молекулярный кислород, по его мнению, в этой фазе окисления не участвует. Он нужен только для второй фазы процесса, связанной с регенерацией дегидраз и новым переводом их в активное состояние.

В настоящее время ни у кого не вызывает сомнений факт, что первый этап дыхания действительно представляет собою мобилизацию водорода и осуществляется при помощи ферментов дегидраз, обладающих довольно

высокой специфичностью и способных воздействовать только на определенную группу окисляемых соединений. Вероятно, поэтому дегидразы и встречаются в живых клетках в таком большом разнообразии. Все они являются активными водородными акцепторами, способными передавать мобилизованный водород новым акцепторам, пока, наконец, он не дойдет до необратимого акцептора водорода — молекулярного кислорода. Так как в составе почти всех живых организмов, независимо от того, каким типом дыхания они обладают, всегда обнаруживаются соответствующие дегидразы, то из этого факта и можно сделать первый общий вывод: мобилизация водорода дегидразами является обязательным этапом окислительного процесса при любом типе дыхания. Разница между ними связана только с тем, на каком этапе дегидразы включаются в процесс. Если окисление субстрата осуществляется без предварительного разрыва цепочки углеродных атомов — процесс может начаться с мобилизации водорода непосредственно. Таковы, повидимому, процессы окисления глюкозы в глюконовую кислоту, этилового спирта в уксусную кислоту или янтарной кислоты в фумаровую. Если же окисление субстрата сопровождается предварительным разрывом цепочки углеродных атомов, то дегидразы вступают в реакцию на более поздних этапах окисления и мобилизуют водород уже из промежуточных продуктов распада. Ход окислительного процесса при этом значительно усложняется, но фаза мобилизации водорода все равно остается в силе. Она остается в силе и при окислении минерального субстрата, например, аммиака, сероводорода и т. д. Поэтому мобилизацию водорода следует признать всеобщим явлением в окислительных процессах:

$$1.\ RH_2 + \text{дегидраза} \rightarrow R + \text{дегидраза} — H_2$$

Мобилизованный дегидразами водород должен быть далее передан какому-то акцептору. В противном случае окислительный процесс остается незавершенным и энергетический эффект его неиспользованным. Эта передача в одних случаях осуществляется дегидразой непосредственно, а в других случаях — через ряд промежуточных переносчиков. Непосредственная передача мобилизованного водорода акцептору имеет место, например, в некоторых типах анаэробного дыхания, известных под названием брожений. Передача же водорода через ряд промежуточных переносчиков имеет место в аэробных типах дыхания, приводящих к сжиганию его до воды или же перекиси водорода. Этот этап окислительного процесса можно выразить следующей общей схемой:

$$2.\ \text{дегидраза} — H_2 + \text{акцептор} \rightarrow \text{дегидраза} + \text{акцептор} — H_2.$$

Вот на этом, втором, этапе и начинаются главные различия между типами дыхания. Если у данного организма представлен анаэробный тип, то в качестве акцептора водорода используются молекулы органических веществ, имеющие ненасыщенные связи. Они получаются в ходе дегидрирования и дальнейшего превращения промежуточных продуктов окисления данного субстрата. Если же у организма аэробный тип дыхания, то акцептором водорода служит молекулярный кислород. Разберем химизм каждого из этих типов в отдельности.

Химизм анаэробного дыхания

Анаэробные типы дыхания, имеющие широкое распространение в группе микроорганизмов, базируются на использовании в качестве окисляемого субстрата преимущественно углеводов и некоторых органических кислот. При использовании углеводов предварительно осуществляется их гликолиз, в котором принимают участие различные ферменты подсобного характера. В ходе этого расщепления образуются многочисленные проме-

жуточные продукты, связанные с постепенной перестройкой молекулы окисляемого субстрата в те конечные акцепторы водорода, которые и закрепляют последний в своем составе. Такая перестройка проходит довольно сложно, о чем можно судить по нижеследующей схеме, в которой приводятся главные звенья перехода гексозы в пировиноградную кислоту [Л. Иванов, 1912; Левитов, 1939; Веркман (Werkman), 1939; Энгельгардт, 1934; Липман, 1949; Блицер В. и Цыбакова, 1939]:

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{(АТФ \to АДФ)} C_6H_{11}O_6(H_2PO_3) \xrightarrow{(АТФ \to АДФ)} C_6H_{10}O_6(H_2PO_3)_2 \to$$

$$\to CH_2O(H_2PO_3)CHONCHO \xrightarrow{C+2H_3PO_4} 2CH_2O(H_2PO_3)CHOCH(OH)H_2PO_3 \to$$

$$\to CH_2O(H_2PO_3)COCH_2OH$$

$$\xrightarrow{-2(2H)} 2CH_2O(H_2PO_3)CHOCOO \sim (H_2PO_3) \xrightarrow{(2АДФ \to 2АТФ)} \to$$

$$\to 2CH_2O(H_2PO_3)CHONCOOH \longrightarrow 2CH_2OH\,CHO(H_2PO_3)COOH \xrightarrow{2H_2O} \to$$

$$\to 2CH_2:C-O(\sim H_2PO_3)COOH \xrightarrow{(2АДФ \to 2АТФ)} 2CH_2:C(OH)-COOH \to 2CH_3COCOOH.$$

Указанные на этой схеме этапы постепенного упрощения молекулы гексозы проходят однотипно в большинстве брожений. Различия между ними начинаются только с пировиноградной кислоты. Гомоферментативные молочнокислые бактерии, например, используют пировиноградную кислоту в качестве конечного акцептора водорода и восстанавливают ее до молочной кислоты, являющейся в культурах этих бактерий конечным продуктом окислительного превращения гексозы:

$$2CH_3 \cdot CO \cdot COOH + 2\ \text{дегидраза} - H_2 \to 2CH_3CHOHCOOH + 2\ \text{дегидраза}.$$

Несколько сложнее идет этот процесс при спиртовом брожении, вызываемом дрожжами. Они содержат в составе своих клеток фермент карбоксилазу и в силу этого могут расщеплять пировиноградную кислоту на уксусный альдегид и углекислоту:

$$2CH_3 \cdot CO \cdot COOH + \text{карбоксилаза} \to 2CH_3CHO + 2CO_2 + \text{карбоксилаза}.$$

Образующийся при этом расщеплении уксусный альдегид и служит у них конечным акцептором водорода, превращаясь в этиловый спирт:

$$2CH_3CHO + 2\ \text{дегидраза} - H_2 \to 2CH_3CH_2OH + 2\ \text{дегидраза}.$$

Гетероферментативные молочнокислые бактерии могут использовать в качестве конечных акцепторов водорода как пировиноградную кислоту, так и уксусный альдегид. Поэтому в культурах этой группы бактерий в качестве конечных продуктов превращения углеводов образуются молочная кислота, этиловый спирт, уксусная кислота, янтарная кислота, углекислота и водород. В ходе окислительного процесса они мобилизуют так много водорода, что часть его не находит уже подходящих акцепторов и выделяется в молекулярной форме.

Еще сложнее идут процессы маслянокислого, ацетоно-бутилового и ацетоно-этилового брожений. Наличие в клетках этой группы бактерий еще и фермента карболигазы позволяет им осуществлять конденсацию двух молекул уксусного альдегида в альдоль, или же одной молекулы уксусного альдегида и одной молекулы уксусной кислоты в ацетоуксусную кислоту. Благодаря этому, акцепторами водорода в данном случае

окажутся уксусный альдегид, его альдоль, а также масляная и уксусная кислоты. Все эти соединения восстанавливаются при сравнительно низком окислительно-восстановительном потенциале, и пиридиновая дегидраза может передавать им мобилизованный водород без участия промежуточных переносчиков. Только для восстановления уксусной и масляной кислоты может быть потребуется дополнительное участие вторичных дегидраз. О такой вероятности, между прочим, говорит обильное накопление в культурах ацетоно-бутиловых бактерий рибофлавина.

Однако участие в анаэробном дыхании вторичных дегидраз крайне редкое явление, так как уксусный альдегид, пировиноградная кислота и близкие им соединения восстанавливаются при низком окислительно-восстановительном потенциале, приближающемся к Eh = —240 мв, и могут непосредственно взаимодействовать с восстановленной пиридиновой дегидразой, имеющей окислительно-восстановительный потенциал примерно около Eh = —350 мв. Поэтому анаэробное дыхание и может осуществляться без участия вторичных дегидраз и промежуточных переносчиков водорода. Но если в ходе анаэробного дыхания будут использоваться акцепторы водорода с более высоким окислительным потенциалом, то участие в окислительном процессе промежуточных переносчиков водорода становится необходимым. Примером этого могут служить те процессы анаэробного дыхания, в которых в качестве акцептора водорода используется кислород нитратов или же сульфатов. Эти акцепторы имеют уже более высокий окислительно-восстановительный потенциал и могут реагировать с мобилизованным водородом при участии промежуточных переносчиков, выравнивающих разницу в окислительных потенциалах (Michaelis, 1951). И чем выше будет окислительный потенциал акцептора водорода, тем большее число промежуточных переносчиков должно включаться в цепь его транспорта к этому акцептору. Эти переносчики должны следовать друг за другом с определенными интервалами окислительного потенциала, пока, наконец, они не создадут условий для взаимодействия между мобилизованным водородом и его конечным акцептором.

Химизм аэробного дыхания

В аэробном дыхании в качестве конечного акцептора водорода используется молекулярный кислород, поэтому разница между окислительным потенциалом восстановленной пиридиновой дегидразы (Eh = —350 мв) и окисленной оксидазы (Eh = +600 мв) еще больше и в транспорте водорода от дегидразы к оксидазе должно участвовать еще большее число промежуточных переносчиков.

Полная дыхательная система включает в себя, как известно, кроме первичной и вторичной дегидразы и промежуточных переносчиков еще и геминный фермент и цитохромы. Вполне естественно поэтому, что окисление водорода пойдет здесь через ряд промежуточных звеньев в соответствии со следующей общей схемой: $RH_2 \rightarrow$ пиридиновая дегидраза — $H_2 \rightarrow$ промежуточные переносчики — $H_2 \rightarrow$ флавиновая дегидраза — $H_2 \rightarrow$ промежуточные переносчики — $H_2 \rightarrow$ цитохром C — $H_2 \rightarrow$ цитохромы $\rightarrow$ геминный фермент — $O_2 \rightarrow [H_2O]$. Включение промежуточных переносчиков в процесс транспорта водорода постепенно сближает потенциалы реагирующих систем и обеспечивает реакцию между ними. Последовательность передачи водорода от одного промежуточного переносчика к другому можно наметить в форме следующей схемы. От пиридиновой дегидразы водород, вероятно, передается первому звену из цикла дикарбоновых кислот, на участие которых в окислительном процессе обратил в свое время внимание Сцент-Джиорджи (Szent Georgyi, 1938) — щавелевоуксусной кислоте. Акцептируя водород, она превращается в яблочную кислоту. Аналогичную функцию могла бы выполнить и пировиноградная кислота. Акцептируя водород, она превратилась бы в молочную кислоту. Ход

взаимодействия этих продуктов с мобилизованным водородом можно выразить следующим уравнением:

1, $COOH \cdot CO \cdot CH_2 \cdot COOH$ + дегидраза — $H_2 \rightarrow COOH \cdot CHOH \cdot CH_2COOH$ + дегидраза

2. $CH_3 \cdot CO \cdot COOH$ + дегидраза — $H_2 \rightarrow CH_3 \cdot CHOH \cdot COOH$ + дегидраза.

Окислительно-восстановительный потенциал систем: яблочная кислота ⇄ щавеловоуксусная кислота или же молочная кислота ⇄ пировиноградная кислота равен Eh = —160 мв. Обе эти системы имеют одинаковые потенциалы и могут использоваться в качестве промежуточных переносчиков водорода с совершенно одинаковым успехом. Какая же из них используется в преобладающей степени, зависит, повидимому, только от активности соответствующих дегидраз. Если в данном организме содержится активная маликодегидраза — она, вероятно, будет пользоваться в качестве промежуточного переносчика щавелевоуксусной кислотой. Если же в нем содержится активная лактико-дегидграза, то в качестве промежуточного переносчика может использоваться пировиноградная кислота.

Если бы оказалось, что от восстановленной пиридиновой дегидразы передача водорода сразу щавелевоуксусной или же пировиноградной кислоте все же затруднена, то в промежуточном звене между ними могут использоваться системы с еще более низким окислительно-восстановительным потенциалом. К таким системам можно отнести, например, систему изолимонной и щавелево-янтарной кислоты (Eh = —300 мв).

Далее водород от этой группы промежуточных переносчиков забирается флавиновыми дегидразами, имеющими окислительно-восстановительный потенциал, близкий к Eh = —60 мв. При акцептации водорода этими дегидразами окислительный потенциал опять смещается в окислительную сторону примерно на 100 мв. От флавиновых дегидраз водород вновь переходит к промежуточным переносчикам, обладающим более высоким окислительным потенциалом. На этом звене окислительного процесса могут использоваться в качестве промежуточных переносчиков фумаровая кислота, глютатион, цистин, аскорбиновая кислота и другие соединения. Окислительно-восстановительный потенциал этих систем отвечает следующим величинам: фумаровая кислота ⇄ янтарная кислота (Eh = + 15 мв), глютатион (потенциал 2GSH ⇄ GSSG; Eh = + 60 мв), цистин ⇄ цистеин (Eh = +80 мв), аскорбиновая кислота ⇄ дегидроаскорбиновая кислота (Eh = +80 мв).

В зависимости от особенностей организма и наличия в нем соответствующих дегидраз любая из этих систем может использоваться в качестве промежуточного переносчика водорода также с совершенно одинаковым успехом. Кроме них, может использоваться ряд других систем с еще более высоким окислительно-восстановительным потенциалом (например, система гемоглобин ⇄ метгемоглобин, с потенциалом около Eh = +150 мв и другие). Только от перечисленных промежуточных переносчиков водород передается цитохрому, имеющему потенциал около Eh = +260 мв и далее окисляется кислородом, активированным геминным ферментом (потенциал около Eh = +550 +600 мв), до воды. На этой стадии и завершается окислительный процесс, приводящий к полному сжиганию водорода и освобождению соответствующего количества энергии для жизнедеятельности организмов. В ходе этого процесса окисление водорода будет осуществляться парами. Такой ход окисления дает возможность освобождать химическую энергию окисляемого субстрата частями и использовать ее не только более полно, но и для различных процессов жизнедеятельности организма.

Таков, повидимому, главный путь окисления субстрата при использовании молекулярного кислорода в качестве конечного акцептора водорода. Скорость этого процесса будет зависеть не только от активности

дегидраз и оксидаз, но и от наличия соответствующих промежуточных переносчиков водорода. Эти переносчики не только постепенно сближают окислительно-восстановительные потенциалы реагирующих систем, но и выполняют вторую, не менее важную, функцию: они устраняют пространственный разрыв между оксидазами и дегидразами. Эти ферменты, как известно, тесно связаны со структурой протоплазмы (Сисакян, 1951). Они или закреплены на определенных структурных поверхностях протоплазмы, или же, что нам кажется более вероятным, являются субмикроскопическими частями этой структуры. Такая возможность для коллоидных носителей этих ферментов вполне возможна. Только простетические группы их более свободны и могут связываться то с одним, то с другим коллоидным носителем, входящим в субмикроскопическую структуру протоплазмы. При такой локализации дегидраз и оксидаз в протоплазме клетки всегда возможны случаи, когда между ними будет иметь место пространственный разрыв. Этот разрыв не следует представлять таким образом, что дегидразы закреплены на одном конце клетки, а оксидазы на другом конце клетки. При гетерогенности протоплазмы, не подлежащей в настоящее время никакому сомнению, они могут быть закреплены даже рядом друг с другом и, тем не менее, между ними не будет непосредственного контакта, а стало быть не будет и возможности для непосредственного взаимодействия. Такой пространственный разрыв может быть устранен только при помощи промежуточных переносчиков, не связанных со структурой протоплазмы и свободно диффундирующих по всей ее массе. Этому требованию и отвечают все вышеуказанные промежуточные переносчики. Ни пировиноградная, ни щавелевоуксусная, ни фумаровая, ни аскорбиновая кислоты непосредственно с протоплазмой не связаны. Акцептируя пару водородных атомов, они превращаются в соответствующие кислоты, также не связанные со структурой протоплазмы, и, диффундируя свободно во все части клетки, могут доставить их в такие участки ее, где имеются соответствующие дегидразы, вновь отщепляющие от них водород и включающие его в дальнейший цикл превращений. Вот простой пример, поясняющий эту мысль. Пиридиновая и флавиновая дегидразы, вероятно, закреплены на различных структурных поверхностях протоплазмы, так как они обладают разной высотой окислительно-восстановительного потенциала. Непосредственный контакт между ними затруднен, и поэтому передача активированного водорода от пиридиновой дегидразы к флавиновой также затруднена. Когда молекула окисляемого субстрата диффундирует в зону пиридиновой дегидразы и подвергается дегидрированию, то отсутствие контакта между указанными дегидразами не позволяет передать мобилизованный водород от пиридиновой дегидразы к флавиновой. Если теперь в зону расположения пиридиновой дегидразы диффундирует молекула пировиноградной или же щавелевоуксусной кислоты, то она может воспринять водород от этой дегидразы и перейти в молочную или же яблочную кислоту. Последняя, в свою очередь, начинает диффундировать во все участки протоплазмы и, в частности, попадает в зону вторичной дегидразы. Последняя отщепляет водород от указанных кислот и вновь превращает их в исходные продукты, способные повторить снова тот же цикл. В результате этих превращений мобилизованный водород субстрата окажется транспортированным от одной дегидразы к другой, несмотря на то, что между ними не было прямого контакта. Для гетерогенной системы живой протоплазмы такие пути транспорта водорода, несомненно, имеют важнейшее значение и должны в полной мере учитываться при разборе процессов окисления в живой клетке.

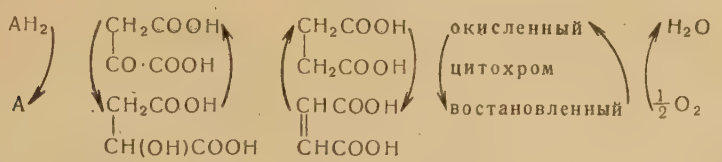
При таком подходе к роли ряда органических кислот в окислительных процессах становится необходимым пересмотр и окислительного цикла трикарбоновых кислот, получившего весьма широкое распространение в физиологической литературе.

Окислительный цикл трикарбоновых кислот

Как уже упоминалось выше, Сцент Джиорджи (1938) заметил, что в некоторых живых тканях окисление углерода вначале идет весьма быстро, а затем скорость процесса постепенно падает. Параллельно с падением интенсивности окисления наблюдается и исчезновение из среды янтарной кислоты. Если в такую среду вновь добавить небольшое количество янтарной или фумаровой кислоты, то интенсивность окисления вновь поднимается до прежнего уровня. Из этих наблюдений и было сделано заключение, что окисление углеводов катализируется янтарной и фумаровой кислотами, выполняющими функцию переносчиков водорода.

В ходе дальнейших исследований было обнаружено, что аналогичным образом ведут себя еще две дикарбоновые кислоты: щавелевоуксусная и яблочная.

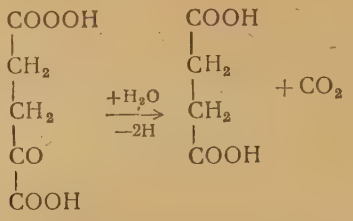
В результате этих исследований и было выдвинуто предположение, что в ходе окислительного процесса все вышеуказанные кислоты переносят водород согласно со следующей схемой:



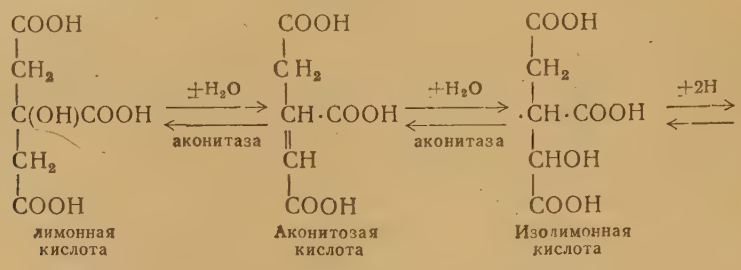
Но когда попытались такую систему реконструировать из очищенных препаратов, то оказалось, что система янтарной кислоты, не требующая для осуществления процесса кодегидразы I, не вступает в сопряженную реакцию с яблочной кислотой, так как последняя становится активной только при наличии кодегидразы I. Это затруднение заставило признать, что активное участие в переносе водорода принимают только янтарная и фумаровая кислоты. Благоприятное же влияние яблочной и щавелевоуксусной кислот стали объяснять тем, что они могут служить материалом для образования фумаровой кислоты. Однако такое объяснение явно ограничивает значение этих кислот в промежуточном переносе водорода. Раз для активного участия этой системы нужна кодегидраза I, а она является простетической группой пиридиновых дегидраз, то, очевидно, данная система дикарбоновых кислот должна занимать промежуточное место в переносе водорода между пиридиновыми и флавиновыми дегидразами. Поскольку, далее, система янтарной и фумаровой кислот не требует для своей активации кодегидразы I, очевидно, она занимает промежуточное положение между флавиновыми дегидразами и цитохромом. Отсюда становится неизбежным и дальнейший вывод: в цикле дикарбоновых кислот неправильно показана непосредственная передача водорода от яблочной кислоты к фумаровой. Между ними должна быть еще одна дегидразная система, сглаживающая разницу в окислительном потенциале между этими системами. Этой промежуточной системой и являются флавиновые дегидразы, окислительный потенциал которых отвечает $Eh = +60$ мв, т. е. как раз и находится в средней зоне между потенциалами вышеуказанных систем.

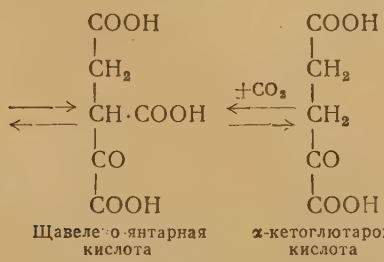
При дальнейших исследованиях было установлено, что каталитическим действием обладают еще две кислоты: α-кетоглютаровая и лимонная.

Эффект от первой кислоты объяснили тем, что она, подвергаясь окислительному декарбоксилированию, превращается в янтарную кислоту и вступает в обычный дикарбоновый цикл:



Эффект же от лимонной кислоты был приписан действию цитрикодегидразы, которая превращает лимонную кислоту в α-кетоглютаровую, из которой далее вновь получается янтарная кислота:



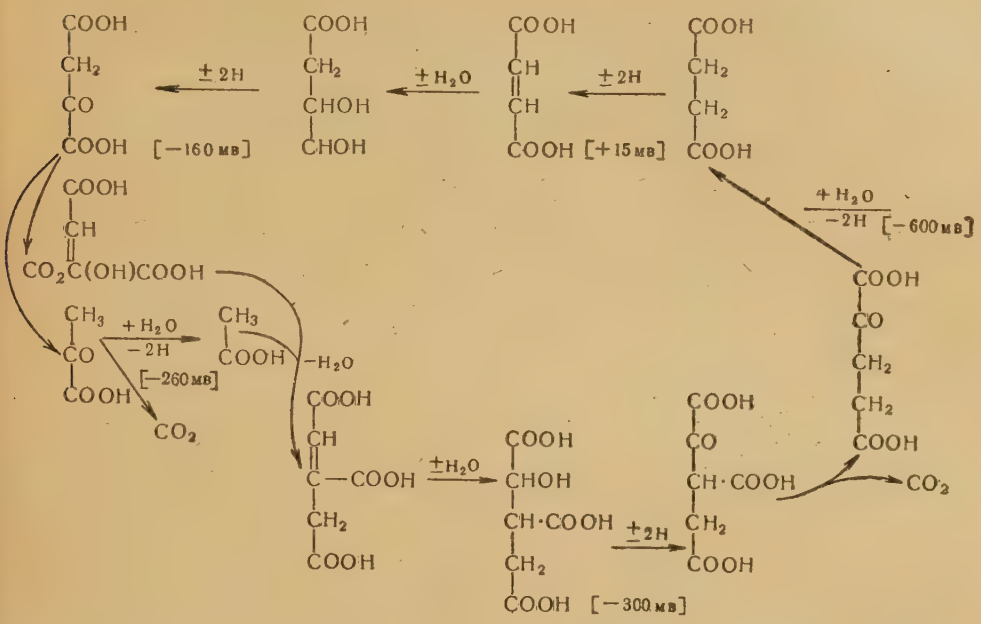


Изоцитрикодегидраза оказалась весьма специфичной. Она действует только на изолимонную кислоту. Эта дегидраза активна при наличии кодегидразы II и превращает изолимонную кислоту в щавелевоянтарную, которая под влиянием особой декарбоксилазы превращается в α-кетоглютаровую кислоту и далее в янтарную кислоту, включающуюся в дикарбоновый цикл. Однако такое объяснение весьма односторонне.

Трикарбоновые кислоты, в частности изолимонная и щавелевоянтарная кислоты, обладая способностью превращаться друг в друга под влиянием фермента изоцитрикодегидразы, могут функционировать и в качестве самостоятельного промежуточного переносчика водорода. Так как для каталитической активности изоцитрикодегидразы требуется кодегидраза II, то следует полагать, что эта система может выполнять функцию промежуточного переносчика водорода между пиридиновой и флавиновой дегидразами. Все это вместе взятое и позволяет утверждать, что природа каталитической активности некоторых трикарбоновых кислот однотипна с дикарбоновыми кислотами. Они служат непосредственными переносчиками водорода, а не только материалом для образования дикарбоновых кислот.

При такой оценке роли трикарбоновых кислот в окислительном превращении углеводов по необходимости придется пересмотреть и цикл трикарбоновых кислот Кребса (Krebs, 1943), изображенный на нижеследующей схеме (см. стр. 595).

Согласно этой схеме, пировиноградная кислота, подвергаясь окислительному декарбоксилированию, превращается в уксусную кислоту, которая с энольной формой щавелевоуксусной кислоты конденсируется



в аконитовую кислоту. Последняя под действием фермента аконитазы переходит в изолимонную кислоту, на которую воздействует фермент изоцитрикодегидраза и превращает ее в щавелевоянтарную кислоту, в свою очередь переходящую в α-кетоглютаровую, при обычном декарбоксилировании. Окислительное декарбоксилирование α-кетоглютаровой кислоты приводит к образованию янтарной кислоты, которая в результате дегидрирования превращается в фумаровую кислоту. Последняя присоединяет воду под влиянием фермента фумаразы и превращается в яблочную кислоту, новое дегидрирование которой дает щавелевоуксусную кислоту, а из нее получается уже пировиноградная кислота и вступает снова в этот цикл.

В процессе указанных здесь превращений происходит отщепление трех молекул угольной кислоты и пяти пар водородных атомов, передаваемых цитохромной системе для окисления в воду.

Такова основная схема окислительного цикла трикарбоновых кислот. Если принять ее в качестве реально осуществляющегося процесса, то легко объяснить полное окисление пировиноградной и уксусной кислот, а также любого другого соединения, превращающегося в эти продукты, до углекислоты и воды. Поэтому в вышеизложенной каталитической системе авторы цикла трикарбоновых кислот (Кребс, 1943 и др.) видят механизм, который может осуществить полное окисление большого количества пищевых веществ и промежуточных продуктов их превращения. Кроме того, побочные превращения отдельных органических кислот дают основу для образования различных других продуктов и тем самым связывают углеводный и белковый обмен в единое целое (Таусон, 1950). Эта связь основывается на том, что ряд аминокислот, входящих в состав белковых веществ (аланин, аспарагиновая и глютаминовая кислоты), могут синтезироваться из соответствующих кетокислот в процессах аминирования или же переаминирования (Браунштейн, 1947). Все это вместе взятое и побуждает биохимиков давать высокую оценку циклу трикарбоновых кислот. «Несомненно,— указывает Болдуин (1949 стр. 439),— что в этом каталитическом цикле и его различных побочных реакциях многое еще должно быть выяснено и уточнено, но в то же время не приходится сомневаться в его огромном и фундаментальном значении. Окислительный цикл служит в одно и то же время тем пунк-

том, где происходит окисление многочисленных веществ, образовавшихся на скрещивающихся путях, и местом встречи многих направлений углеводного, жирового и белкового обмена». Такая оценка нам представляется явно преувеличивающей физиологическое значение цикла трикарбоновых кислот, если ему вообще может быть отведено существенное место в окислительных процессах. Приведем факты за и против этой схемы.

За эту схему говорят следующие факты. При выдерживании пировиноградной и щавелевоуксусной кислот с измельченной животной тканью в анаэробных условиях удается обнаруживать небольшие количества лимонной кислоты (Krokes, 1950). При таком же выдерживании пировиноградной кислоты обнаруживаются янтарная и α-кетоглютаровая кислоты. И, наконец, если пировиноградную кислоту выдерживать с печеночной тканью в присутствии углекислоты с «меченым» углеродом, то удается обнаружить радиоактивную α-кетоглютаровую кислоту. Декарбоксилирование этой кислоты показало, что «меченый» углерод находится в α-карбоксильной группе, как того и требует ход процесса по циклу трикарбоновых кислот. При этих же опытах с печеночной тканью была выделена и янтарная кислота, но она «меченого» углерода не содержала. Вот главные факты, говорящие в пользу этой схемы. Они кажутся как будто весьма убедительными, но при внимательном знакомстве с ними легко обнаружить и слабые места. В самом деле: при выдерживании пировиноградной кислоты с печеночной тканью наряду с α-кетоглютаровой кислотой получается и янтарная кислота, причем в гораздо бо́льших количествах. Ее образование может быть связано не только с циклом трикарбоновых кислот, но и с непосредственным дегидрированием двух молекул уксусной кислоты, приводящем, как это было показано нами (Федоров, 1929, 1932, 1933), на культурах грибка Mucor stolonifer к образованию янтарной кислоты:

$$\begin{matrix} CH_3COOH \\ CH_3COOH \end{matrix} \rightarrow \begin{matrix} CH_2COOH \\ | \\ CH_2COOH \end{matrix} + \text{дегидраза} - H_2$$

Уксусная же кислота образуется из пировиноградной в процессе декарбоксилирования и последующего окисления уксусного альдегида:

1. $CH_3 \cdot CO \cdot COOH \rightarrow CH_3 \cdot CHO + CO_2$
2. $CH_3CHO + H_2O + \text{дегидраза} \rightarrow CH_3COOH + \text{дегидраза} - H_2$

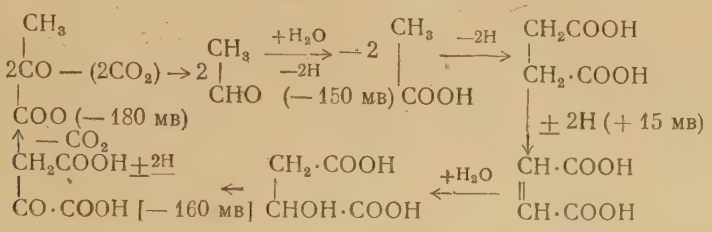
Поскольку янтарная кислота образуется в больших количествах, а α-кетоглютаровая — в малых, путь ее образования из уксусной кислоты, более вероятен, чем путь, связанный с циклом трикарбоновых кислот.

Во-вторых, при выдерживании пировиноградной кислоты с печеночной тканью в присутствии малоновой кислоты, являющейся, как известно, специфическим ядом для сукциндегидразы, наблюдается усиленное накопление янтарной кислоты, также указывающее на полную вероятность ее образования из уксусной кислоты. Если бы ее образование было связано только с циклом трикарбоновых кислот, то прекращение процесса на стадии янтарной кислоты должно было бы оборвать весь цикл и сразу же прекратить ее накопление. Раз она усиленно накапливается и в присутствии малоновой кислоты — значит она образуется иным путем, чем это предусматривается схемой трикарбонового цикла.

В-третьих, при выдерживании пировиноградной кислоты с печеночной тканью и радиоактивной углекислотой была получена янтарная кислота, не содержащая «меченого» углерода. Очевидно, она возникла из пировиноградной кислоты через стадию уксусной кислоты, так как ее образование из пировиноградной и угольной кислот обязательно приводило бы к появлению «меченого» углерода в карбоксиле. Параллельное же обра-

зование α-кетоглютаровой кислоты с «меченым» углеродом в карбоксиле пока остается еще непонятным фактом, но малые количественные выходы ее все равно указывают на ограниченное значение цикла трикарбоновых кислот в окислительных превращениях пировиноградной кислоты.

Поэтому, основываясь на вышеуказанных положениях, мы считали бы более обоснованным представление, что окисление пировиноградной кислоты проходит через следующий цикл реакций, основные звенья которого приводились в нашей работе ранее (Федоров, 1932).



В окислительную реакцию в данном случае входили бы 2 молекулы пировиноградной кислоты, а к исходному положению неизменной возвращалась бы только одна. В ходе вышеуказанных превращений другая молекула подвергалась бы полному окислению с отщеплением трех молекул углекислоты и пяти пар водородных атомов, передающихся через соответственные дегидразы и промежуточные переносчики цитохромной системе для окисления в воду. Эту систему окислительно-восстановительных реакций можно было бы представить в форме следующих уравнений:

1. $CH_3 \cdot CO \cdot COOH + 3H_2O = 3CO_2 + 5\,(2H)$
2. $5\,(2H) + 2^1/_2O_2 = 5H_2O$
3. $CH_3 \cdot CO \cdot COOH + 2^1/_2O_2 = 3CO_2 + 2H_2O$

Эта схема окисления не только проще, чем в цикле трикарбоновых кислот, но и гораздо более обоснована, так как окислительные потенциалы всех звеньев очень близки между собою и самая трудная реакция — окисление уксусной кислоты в янтарную — может считаться твердо установленной и легко воспроизводимой на отдельных биологических объектах. Остальные же реакции легко осуществимы в любых биологических объектах (Dagley, Morrison and Daves, 1943), так как сукциндегидраза, маликодегидраза и фумараза встречаются в клетках почти всех живых организмов (растений, животных и микроорганизмов). Побочное же образование изолимонной и щавелевоянтарной кислот при окислении углеводов имеет существенное значение в окислительных процессах не потому, что они входят в цикл трикарбоновых кислот, а потому, что они являются промежуточными переносчиками водорода от пиридиновых дегидраз к флавиновым дегидразам. Возможно α-кетоглютаровая кислота и образуется из этих соединений после того, как они выполнят свои каталитические функции. Вот почему нам представляется, что цикл трикарбоновых кислот пока еще не может считаться достаточно обоснованным. Об этом говорят не только те факты, на которые мы ссылались выше, но и значения потенциалов для отдельных окислительно-восстановительных систем, входящих в этот цикл. Они не следуют той последовательности, которая нужна была бы для реального течения окислительного процесса. В самом деле: мобилизация водорода при окислительном дегидрировании пировиноградной кислоты должна осуществляться при потенциале около — 600 мв. Синтез аконитовой кислоты из уксусной и энол-щавелевоуксусной должен происходить со снижением потенциала примерно на —150 мв, мобилизация водорода из изолимонной кислоты должна идти при —300 мв, из янтарной кислоты при +15 мв, из яблочной

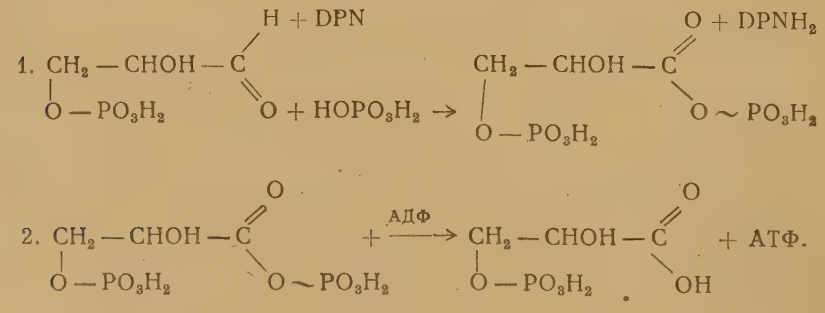
при —160 мв, а из изолимонной опять при —300 мв. Что это за окислительный цикл, в котором окисление приводит к падению потенциала мобилизуемого водорода? Наконец, несколько слов о значении промежуточных переносчиков водорода в трансформации энергии в ходе процессов дыхания.

Значение промежуточных переносчиков водорода в аккумуляции энергии окисления

Окислительные процессы приводят к освобождению некоторого количества химической энергии, используемой живым организмом для различных процессов жизнедеятельности. В связи с этим возникает вопрос: каков же химический механизм использования этой энергии. На этот вполне законный вопрос пока еще нет исчерпывающего ответа, хотя и предпринимались многократные попытки получить этот ответ.

Прежде всего, была сделана попытка определить энергетический выход отдельных окислительных реакций. С этой целью диализованный экстракт животной ткани выдерживали с добавлением янтарной кислоты, аденозиндифосфорной кислоты и магниевой соли фосфорной кислоты. Такой раствор обладал свойством поглощать кислород и переводить аденозиндифосфорную кислоту и аденозинтрифосфорную кислоту. Очевидно, при этих условиях энергия дегидрирования янтарной кислоты закрепляется в форме макроэргических фосфатных связей. Далее было установлено, что на каждый атом использованного кислорода синтезировалось четыре макроэргические связи аденозинтрифосфорной кислоты.

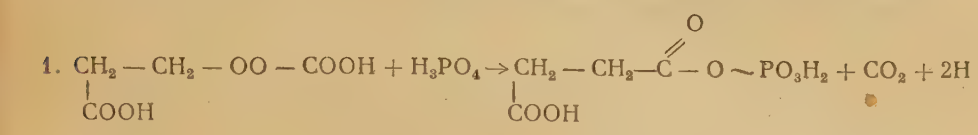
В многочисленных опытах, проведенных в дальнейшем, было установлено, что аденозинтрифосфорная кислота может синтезироваться при любом дегидрировании, сопровождающемся окислением водорода до воды (Hernsey, 1951). Химический же механизм передачи энергии с одних компонентов реакции на другие был изучен на процессе окисления 3-фосфоглицеринового альдегида в 3-фосфоглицериновую кислоту. Оказалось, что этот процесс проходит довольно сложно и связан с участием цитохромной системы. О его сложности можно догадываться по следующим данным: 3-фосфоглицериновый альдегид сначала присоединяет неорганический фосфат и превращается, повидимому, в 1,3-фосфоглицериновый альдегид. Гидратированная форма этого альдегида дегидрируется и параллельно образуется 1,3-фосфоглицериновая кислота, содержащая в своей молекуле макроэргическую фосфатную связь. И только на третьей стадии процесса эта макроэргическая фосфатная связь переносится на аденозиндифосфорную кислоту и превращает ее в аденозинтрифосфорную кислоту:

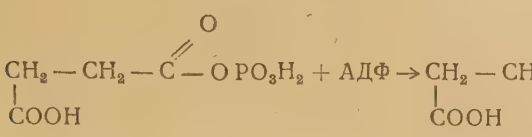


Участие в этих процессах фосфорной кислоты приводит к тому, что энергия окислительных реакций не выделяется в форме тепла, а аккумулируется в форме макроэргических фосфатных связей и отчуждается от молекулы окисляемого субстрата лишь при образовании конечных про-

дуктов окисления в виде легко мобилизуемой химической энергии фосфатных группировок (~ PO_3H_2). Каждая макроэргическая фосфатная связь равноценна примерно 10000—12000 грамм-колориям. Так как эта связь имеет близкое значение для ряда фосфорноорганических соединений, то между ними становятся возможными разного рода реакции обмена группами PO_3H_2 (Lippman: 1939, 1943, 1946).

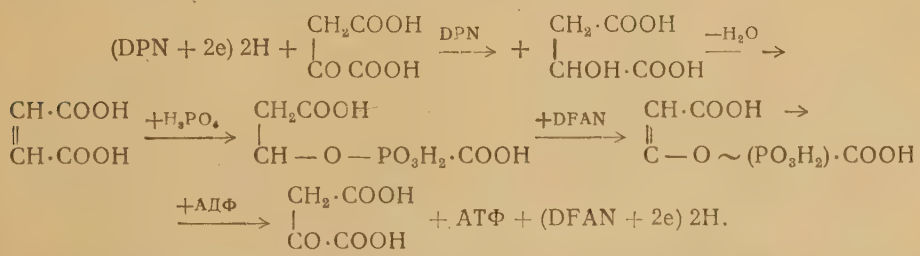
Аналогичным образом закрепляется энергия и при окислительном декарбоксилировании, например, α-кетоглютаровой кислоты в янтарную. По данным Ayl (1948) эту реакцию можно выразить уравнением:





Такого рода реакции (Hunter, 1949), несомненно, имеют важнейшее значение в жизнедеятельности живых организмов, так как почти вся углекислота, выделяющаяся в ходе дыхания, образуется за счет декарбоксилирования различных кетокислот.

Все эти данные опять приводят нас к тем же вопросам ступенчатого окисления водорода субстрата с участием промежуточных переносчиков. При повышении окислительного потенциала электронов, передаваемых вместе с водородом от пиридиновой дегидразы к флавиновой дегидразе, и синтезируется макроэргическая фосфатная связь:

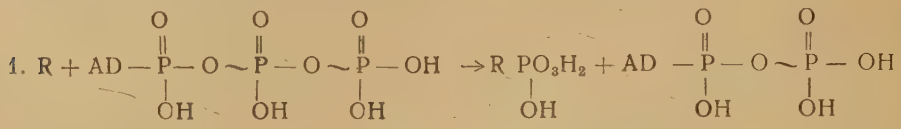


В конечном итоге этого цикла реакции промежуточный переносчик вновь возвращается к своему исходному состоянию, но этот возврат связан с двумя очень важными явлениями: во-первых, два электрона переданы флавиновому ферменту вместе с двумя окисленными атомами водорода и, во-вторых, в побочных реакциях синтезирована одна макроэргическая фосфатная связь, аккумулировавшая часть освобождающейся энергии в фосфатной связи аденозинтрифосфорной кислоты. Поэтому следует думать, что ступенчатое снижение потенциала электронов, сопровождающееся образованием макроэргических фосфатных связей, имеет выдающееся значение в использовании энергии окисления для различных сторон физиологической деятельности организма. Без участия многочисленных промежуточных переносчиков в окислительном процессе экономное использование энергии было бы совершенно невозможным.

Ступенчатость переноса электронов обеспечивает не только условия для взаимодействия между мобилизованным водородом и его акцепторами, но и многократное фосфорилирование, способствующее более полному усвоению энергии окисления. В последнем процессе, как уже указывалось выше, участвуют соединения, содержащие карбонильную группу, типа щавелевоуксусной и аскорбиновой кислот. Пара электронов

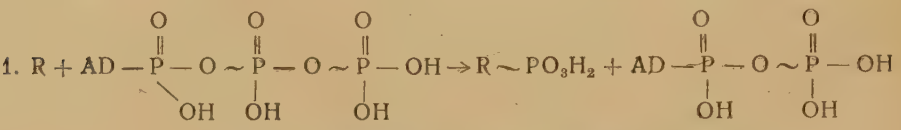
переносится с дегидрирующего фермента на промежуточный переносчик, соответствующий ему по окислительному потенциалу. Карбонильная группа этого соединения при этом восстанавливается. После этого идет ряд реакций, сопровождающихся снижением потенциала восстановленного промежуточного соединения. Эти реакции и сопровождаются фосфорилированием, имеющим выдающееся значение в энергетическом обмене живой клетки.

Дальнейшее же использование энергии, аккумулированной в фосфатных связях, для разного рода синтетических процессов может происходить различными путями. Среди этих путей наиболее важное значение имеют два: 1) фосфорилирование реагирующих веществ за счет передачи фосфатной группировки от аденозинтрифосфорной кислоты и 2) предварительный синтез фермент-субстратного комплекса при участии той же аденозинтрифосфорной кислоты (Kalkar, 1941). Первый тип взаимодействия можно представить следующей схемой:



2. $R \sim PO_3H_2 + R_1 - OH \rightarrow R \sim R_1 + H_3PO_4$

Во втором случае происходит следующее взаимодействие:



2. $R \sim PO_3H_2 +$ фермент $- OH \rightarrow R \sim$ фермент $+ H_3PO_4$

3. $R \sim$ фермент $+ R_1 - OH \rightarrow R \sim R_1 +$ фермент $- OH$

В результате этих взаимодействий, невозможная без затраты энергии, синтетическая реакция становится возможной и совершается в организме самопроизвольно.

Как можно было убедиться даже из краткого изложения данной проблемы, процессы окисления идут значительно более сложными и разнообразными путями, чем думали выдающиеся физиологи и биохимики, разработавшие оригинальные теории дыхания. В настоящее время не трудно убедиться в том, что любая из выдвинутых ими теорий, не дает исчерпывающего объяснения всего химизма процессов дыхания. Это, конечно, отнюдь не означает, что все предложенные теории теряют свое значение. Вовсе нет. Отдельные положения теории Баха и Палладина, связанные с разработкой механизма активации молекулярного кислорода или же водорода окисляемого субстрата, естественно, остаются в силе. Отдельные положения теории С. П. Костычева (1907, 1910, 1924) о генетической связи дыхания с брожением, центрировавшие внимание на значении процессов гликолиза, также остаются в силе. Отдельные положения теории Буткевича (1941), центрировавшие внимание на однофазности ряда окислительных процессов, также остаются в силе. Все это бесспорно. Но также бесспорно и другое: каждая из указанных теорий дает для современного понимания процесса дыхания только отдельные положения. Процесс же дыхания в целом гораздо более сложен и кроме активации водорода и кислорода требует участия многочисленных промежуточных переносчиков водорода и электронов, без которых он также совершаться не может.

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева

Получено 8.XII.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

Бах А. Н. Химизм дыхательных процессов. Журн. русского физ.-хим. об-ва, 44, 1912.
Белицер В. А. и Цыбакова Е. Т. О механизме фосфорилирования, сопряженного с дыханием. Биохимия, 4, стр. 516, 1939.
Брауншгейн А. Е. Переаминирование и интегрирующие функции дикарбоновых кислот в азотистом обмене. Сб. «Успехи современной биохимии», 1, стр. 40, 1947.
Болдуин Э. Динамическая биохимия. 1949.
Буткевич В. С. К современному состоянию вопроса о химизме процессов дыхания у растительных организмов. Сб. работ по физиологии растений, АН СССР, 1941.
Варбург О. Химическое строение ферментов. Успехи химии, VII, 1578, 1938.
Иванов Л. А. Об участии фосфатов в спиртовом брожении. 1912.
Костычев С. П. Исследование над аэробным дыханием растений. 1907.
Костычев С. П. Физиолого-химические исследования над дыханием растений. 1910.
Костычев С. П. Die Atmung der Pflanzen. 1924.
Левитов М. М. Фосфорные соединения при брожении в живых бактериальных клетках. Биохимия, 4, стр. 657, 1939.
Липман Ф. Типы метаболических реакций. Сб. «Проблемы современной биохимии», стр. 47, 1949.
Львов С. Д. Теория дыхания В. И. Палладина в свете новейших достижений биохимии. Успехи биологической химии, стр. 62—86, 1924.
Львов С. Д. Основные направления в историческом развитии учения о дыхании. 1950.
Опарин А. И. Zur Kenntnis der Oxydation in der lebender Zelle. Bioch., Z., 182, 155, 1927.
Палладин В. И. Значение воды в процессе спиртового брожения и дыхания растений. Сб., посвященный К. А. Тимирязеву, стр. 12—34, 1916.
Палладин В. И. Дыхание растений, как сумма ферментативных процессов. Зап. АН СССР, сер. VIII, 20, 1907.
Палладин В. И. Значение восстановлений для дыхания растений. Изд. АН СССР (академ. речь), 1915.
Сисакян Н. М. Ферментативная активность протоплазменных структур. 1951.
Таусон В. О. Основные положения растительной биоэнергетики. 1950.
Федоров М. В. Происхождение янтарной кислоты в культурах Muc. Stolonifer. Тр. Тимирязевского н.-иссл. ин-та, 1929.
Федоров М. В. Химизм превращений этилового спирта в культурах. Микробиология, II, вып. 4, 1932.
Федоров М. В. К вопросу о биологическом синтезе аминосоединений. Микробиология почвы (труды ВИУАА), вып. 1, 46, 1933.
Энгельгардт В. А. Химизм и ферменты брожения. Микробиология, V, 324, 1934.
Ayl S. J. a. Werkman C. H. Enzymatic fixation of carbon dioxide in d-ketoglutaric acid. Proc. Natur. Acad. Sc. (USA), 34, 401, 1948.
Dagley S., Morrison G. a. Daves E. The dicarboxylic acid cycle in bacterial metabolism. Arch. Bioch., 32, 23, 1943.
Frei W., Riedmuller L. a. Amasy T. Über cytochrom und das Atmungssysteme der Bakterien. Biochem. Z., 274, 253, 1934.
Hersey D. F. a. Ayl S. J. Adenosinetriphosphate formation in the oxydation of sucinic acid by bacteria. Journ. Biol. Chem., 191, 113, 1951.
Hunter F. E. Anaerobic phosphorilation due to a coupled öxydation-reduction between d-ketoglutaric acid and oxaloacetic acid. J. Biol. Chem., 177, 351, 1949.
Kalkar H. U. The nature of energetic coupling in biological synthesis. Chem. Rev., 28, 71, 1941.
Krebs H. A. The intermediary stages in the biologic. oxydation of carbohydrates. Adv. Enzym., 3, 191, 1943.
Krokes S., Stern J., Gansalus J. a. Ochoa S. Enzymatic synthesis of citrate from pyruvate and oxaloacetate. Nature, 166, 439, 1950.
Keilin D. On cytochrome, a respiratory pigment, conmon to animals, yest higher plants. Proc. Roy. Soc., Ser., B., 18, 312, 1925.
Lippman F. Coupling between pyruvic acid dehydrogenation and adenilic acid phosphorylation. Nature, 143, 281, 1939.
Lippman F. Biological oxydations and reductions. Ann. Rev., Bioch., 12, 231, 1943.
Lippman F. Acetylphosphate. Adv. in Enzymol., 6, 231, 1946.
Michaelis L. Theory of oxydation-reduction. «Enzymes», Ed. by Samner, II, 1951
Szent-Georgyi A. Studies on biological oxydation, 1938.
Warburg O. Химическое строение ферментов. Успехи химии, VII, стр. 1578, 1938.
Warburg O. Schwermetalle, als Wirkungsgrupen von Fermenten. 1946.
Werkman C. H. Bacterial dissimilation of carbohydrates. Bact. Bact. Rev., 3, 187, 1939.
Wieland H. Ueber den Verlauf der Oxydationsvorgänge. Ber. d. d. chem. Gesellschaft, 55, 3639, 1922.

АРТУР АРТУРОВИЧ ЯЧЕВСКИЙ КАК МИКОЛОГ И ФИТОПАТОЛОГ

(1863—1932)

(К двадцатилетию со дня смерти)

М. В. Горленко

Артур Артурович Ячевский, крупнейший русский миколог и фитопатолог, родился 23 января 1863 г. в селе Рылькове Гжатского уезда Смоленской губернии; скончался 12 февраля 1932 г. в Ленинграде. Первоначальное образование получил дома. Затем слушал лекции в Швейцарии, где и провел свои первые исследования по микологии. Научная деятельность его началась в 1889 г. В 1892 г. появилась его первая печатная работа о новом виде гриба Laestadia ilicis sp. n., и с тех пор на протяжении сорока лет ежегодно печатались его произведения по разным вопросам микологии и фитопатологии. Они продолжали выходить и после смерти А. А. Ячевского, напоминая нам о тяжелой потере человека с огромной эрудицией, первоклассного миколога и фитопатолога.

С 1894 г. начались микологические исследования Ячевского в России. В 1896 г. он начал работать в Петербургском Ботаническом саду, где работал до 1906 г. Там он в 1902 г. организовал Центральную фитопатологическую станцию и был ее первым заведующим. В 1907 г. он организовал бюро по микологии и фитопатологии Сельскохозяйственного ученого комитета, которое потом было преобразовано в отдел микологии и фитопатологии Государственного института опытной агрономии, впоследствии получившего название микологической и фитопатологической лаборатории им. А. А. Ячевского. Более подробные сведения о нем можно найти у В. И. Липского [1]. Его работа является важным источником основанным на автобиографических данных. В ней приводится список работ Ячевского, состоящий из 314 названий.

Организованная Ячевским микологическая и фитопатологическая лаборатория являлась широко задуманным научным учреждением по этим специальностям. Она имела в своем составе систематическое, морфологическое, биологическое, фитопатологическое отделения, отделения мер борьбы, и лесной фитопатологии. Специально были выделены регистрационное, библиографическое, статистическое, музейное и художественное отделения, дублетный гербарий. Кроме того, лаборатория имела специальные отделения по изучению болезней картофеля в Коренево и Калитино и болезней льна на Энгельгардтовской опытной станции. Такая структура позволила создать в лаборатории исключительно богатые научные коллекции, основа которых была заложена самим Ячевским. Там имелся лучший в Союзе гербарий грибов (особенно паразитных), которым пользуются и сейчас все микологи и фитопатологи нашей страны при определении производимых ими сборов грибов, изучении географического распространения тех или иных видов и т. п. Этот герба-

[1] В. И. Липский «Биография и литературная деятельность ботаников и лиц, соприкасающихся с ботаническим садом». В кн. «Импер. Ботанич. сад за 200 лет его существования» (1713—1913), ч. 3, Птгр., 1913—1915 (А. А. Ячевский, стр. 487—506). См. также журн. «Садовод», № 4, 1913, стр. 297—299; энциклоп. словарь Брокгауз и Эфрон. Полутом 32, 1904, стр. 85; Болезни растений, 1924, № 1, стр. 21—23; Природа, 1933, № 2, стр. 74—75.

рий, находящийся сейчас в ведении лаборатории систематики грибов им. А. А. Ячевского Всесоюзного института защиты растений, продолжает все время пополняться.

Огромную ценность представляет начатый А. А. Ячевским каталог (картотека) географического распространения грибов в СССР, который ведется и поныне сотрудниками лаборатории им. Ячевского. Наконец, лаборатория обладала обширнейшей библиотекой микологической и фитопатологической литературы, в значительной степени состоящей из книг, лично преподнесенных А. А. Ячевскому микологами и фитопатологами всего мира. Эта библиотека вошла в состав библиотеки Всесоюзного института защиты растений.

А. А. Ячевский был участником многих международных ботанических и сельскохозяйственных конгрессов. На международном сельскохозяйственном конгрессе в Вене в 1905 г. и на первом международном конгрессе по сравнительной патологии в Париже в 1912 г. он был председателем фитопатологической секции. В 1905 г. на Международном ботаническом конгрессе А. А. Ячевский представил от имени русских ботаников проект международной ботанической номенклатуры, принятой съездом почти без изменений.

А. А. Ячевский был действительным и почетным членом многих микологических, ботанических и фитопатологических обществ Советского Союза и зарубежных стран. Он состоял также членом Московского общества испытателей природы, в изданиях которого была напечатана первая его работа по микологическому обследованию в России. В 1905 г. Ячевский являлся вице-президентом Российского общества садоводства. Был организатором и председателем (до конца своих дней) микологической секции Государственного Русского ботанического общества. Будучи вице-президентом Российского общества садоводства и редактором журнала этого общества, А. А. Ячевский горячо сочувствовал идеям И. В. Мичурина. 18 января 1913 г. он писал ему: «Ваши работы настолько ценны для России, что заслуживают всяческой поддержки. Я уже не раз говорил многим, что у нас любят восхищаться американцами, а своих не признают или по крайней мере не желают замечать» [2].

А. А. Ячевский вел большую редакторскую работу. Он был организатором и редактором первого в России фитопатологического журнала «Листок для борьбы с болезнями растений» (1902—1905), составителем и редактором «Ежегодника сведений о болезнях и повреждениях растений» (1903—1917), редактором «Материалов по микологии и фитопатологии» (1915—1931). Одно время А. А. Ячевский редактировал журнал «Вестник садоводства» (1908) и журнал «La Narcisse», издававшийся швейцарским ботаническим обществом.

А. А. Ячевский не был ученым-одиночкой. Он создал большую школу микологов и фитопатологов. Вероятно, мы не ошибемся, если скажем, что большинство фитопатологов и микологов Советского Союза, работавших в тридцатых годах, в той или иной степени являлись учениками А. А. Ячевского или учениками его учеников. «Можно без преувеличения сказать, что в СССР нет фитопатолога, который бы не был учеником А. А. Ячевского... Вся школа русских фитопатологов является по существу школой А. А. Ячевского»,— писали в 1923 г. академики Бородин, Комаров и Омелянский [3]. К ученикам А. А. Ячевского относятся известные советские микологи и фитопатологи: Н. А. Наумов, Г. Н. Дорогин, Л. А. Лебедева, Д. Л. Тверской, Л. Ф. Русаков, В. Н. Оршанская, А. И. Райлло и многие другие. Он являлся одним из организаторов Института прикладной зоологии и фитопатологии в Ленинграде (1924).

[2] А. Н. Бахарев. Иван Владимирович Мичурин. Биографический очерк. Соч., т. I, стр. 38, 1939.

[3] И. П. Бородин, В. Л. Комаров и В. Л. Омелянский, Записка об ученых трудах А. А. Ячевского. Изв. Акад. наук, VI серия, т. XVII, 1923, стр. 338—339.

С 1920 по 1927 г. Ячевский был профессором Лесного института. В 1923 г., по представлению академиков И. П. Бородина, В. Л. Комарова и В. Л. Омелянского, А. А. Ячевский был избран членом-корр. Академии наук (см. протокол X заседания общего собрания Академии наук 1 декабря 1923 г.) [4].

Советская общественность высоко чтит память о А. А. Ячевском. В день тридцатилетия существования Лаборатории систематики грибов им. Ячевского Всесоюзного института защиты растений там была помещена мраморная доска с указанием, что эта лаборатория носит имя А. А. Ячевского. В год пятнадцатилетия со дня смерти А. А. Ячевского состоялись заседания, посвященные его памяти в Москве, во Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук им. В. И. Ленина и в Тимирязевской сельскохозяйственной академии, а также в Ленинграде, Харькове, Воронеже и других городах.

Также широко было отмечено и двадцатилетие со дня его смерти. Памяти А. А. Ячевского было посвящено 103-е заседание секции микологии и фитопатологии Всесоюзного Ботанического общества, состоявшееся 12 февраля 1952 г. Доклад на этом заседании («К 20-летию со дня смерти проф. А. А. Ячевского») сделал М. К. Хохряков.

Научная деятельность Ячевского отличалась исключительной многогранностью. Просматривая списки его работ (которых было опубликовано свыше 500), удивляемся широте его интересов, свежести и остроте высказываемых им взглядов. В короткой статье нет возможности подробно осветить всю деятельность этого человека. Предлагаемая статья лишь кратко ее характеризует.

Лишь очень небольшой период времени А. А. Ячевский занимался только микологией (1889—1896). В 1896 г. он начал изучать болезни растений и с тех пор уделял примерно равное внимание микологии и фитопатологии. При этом в области фитопатологии он развил, помимо научной, огромную организаторскую и популяризаторскую деятельность. «Основоположник фитопатологии в России» — вполне справедливо называет А. А. Ячевского В. А. Траншель [5].

Все же наиболее широко А. А. Ячевский работал по микологии. В этой области им и больше всего сделано. Достаточно лишь назвать его фундаментальные труды по микологии, чтобы признать здесь его крупнейшие заслуги. «Микологическая флора России» (т. I — Пероноспоровые, 1901; т. II — Слизевики, 1907); «Определитель грибов» (т. I, 1913, т. II — 1917); карманные определители грибов (Голосумчатые, 1926; Мучнисторосяные, 1927); первый том незаконченного предполагавшегося как семитомник определителя грибов (Фикомицеты, 1931) и, наконец, монументальные «Основы микологии» (1933 г.) — вот далеко не полный перечень книг, по которым учились и учатся многие поколения русских микологов и фитопатологов. Каждый начинающий определять грибы делал это по определителям А. А. Ячевского. Так было в момент выхода этой книги в свет (1913—1917), так продолжается и сейчас — через 30 лет. Лучшего определителя у нас пока нет. Каждый работающий в области микологии и фитопатологии постоянно обращается к «Основам микологии» А. А. Ячевского, равных которым нет в мировой литературе [6], и каждый раз с благодарностью вспоминает о человеке, собравшем в единое целое такое огромное количество сведений, накопленных учеными всех стран мира. В сущности одних перечисленных нами книг было бы достаточно, чтобы имя А. А. Ячевского было бы увековечено в истории русской микологии. Но это далеко не все. Им описано огромное число новых для науки видов грибов на самых различных субстратах. Для контраста укажем, что им, например, описан новый вид головневого

[4] Изв. Российской АН, VI серия, XVII, 314, 1923.
[5] В. А. Траншель. А. А. Ячевский. Природа, № 2, 1933.
[6] Из предисловия Издательства к «Основам микологии». Сельхозгиз, 1933.

гриба на ржи (Ustilago Vavilovi Jacz) и новый вид гриба на спичечной коробке (Arefia paradoxa Jacz).

При составлении своих определителей и флор А. А. Ячевский часто вносил некоторые изменения в системы обрабатываемых им групп. Так в определителе низших грибов (1931) им установлены новые семейства (Saccopodiacea, Cystopaceae) и даже порядки (Woroninales, Plasmodiophorales).

В определителе мучнисторосяных (1927) у таких видов, как Erysiphe cichoracearum. D. C. E. communis Grew, Sphaerotheca fuliginea Pallacci и ряда других, встречающихся на различных растениях-хозяевах, им выделены специализированные формы почти на каждом роде растения. Однако это вряд ли обосновано. Нам кажется, что вопрос о выделении специализированных форм у Erysiphaceae должен каждый раз решаться экспериментально (по крайней мере когда эти формы выделяются в пределах одного семейства). Это тем более вероятно, что недавние работы по специализации Erysiphe graminis показали полную возможность перекрестного заражения между формами, встречающимися на разных родах злаков[7].

В 1894 г. А. А. Ячевским предложена «естественная классификация пиреномицетов». Однако она не выдержала испытание временем и сейчас нигде не применяется. Да и вряд ли она могла сохраниться. Очень уж различные роды он объединял в одни семейства. Прежде всего в число пиреномицетов им включены Erysiphaceae. Они, как известно сейчас, выделяются в специальную группу Cleistomycetes, порядок Perisporiales, поскольку они имеют замкнутые перитеции (клейстокарпии). Затем, например, в семейство Dothideacees включены, среди других, такие роды, как Aspergillus, Penicillium, Polystigma, Phyllachora, Claviceps, Epichloë. Это семейство, по А. А. Ячевскому, наряду с другими объединяется в группу сложных пиреномицетов в противоположность второй группе простых пиреномицетов. Плодовые тела у Aspergillus и Penicillium приняты им за строму, и поэтому эти роды попали в противоположную с Erysiphacea группу. Между тем те и другие сейчас сближаются, объединяясь в группу Cleistomycetes[8]. Остальные перечисленные нами роды также сейчас разъединены по различным порядкам, например, Claviceps, Epichloë, Polystigma относятся к порядку Hypocreales, а Phyllachora к порядку Dothideales.

А. А. Ячевским разрабатывались и такие общие вопросы микологии, как видообразование у грибов (1927), филогенетика грибов (1927), вопросы грибной фитосоциологии (1922) и много других. В вопросах филогении он отстаивал монофилетическое происхождение грибов, причем, в противоположность взглядам некоторых западноевропейских ученых (Де-Бари, Брефельд), выводил грибы не из водорослей, а из простейших организмов (Protomorpha Gobi). Водоросли рассматривались им и другими русскими ботаниками (Гоби, Сорокин, Генкель) как группа, параллельная грибам.

Развитие низших растений от простейших организмов, по его мнению, шло пятью самостоятельными рядами. На этой основе построена схема классификации грибов А. А. Ячевского (1923). Она составлена, вероятно, под влиянием систематических работ русского ботаника Гоби. Система Ячевского опубликована в первом выпуске карманного определителя грибов (1926) в русском переводе книги Эриксона «Болезни растений», изданном под редакцией А. А. Ячевского (1929).

Весьма интересные взгляды высказывает А. А. Ячевский в своей работе «К вопросу о видообразовании у грибов»[9]. Уже на первой странице он пишет: «Старое догматическое понятие о константности вида...

[7] Hardison. J. R. Phytopathology, 35, No. 1, 1945.
[8] Ср., например, у Л. И. Курсанова «Микология» 1940, стр. 236—237.
[9] Материалы по микологии и фитопатологии, год VI, вып. I, 1927.

должно уступать место новому взгляду, имевшему теперь значение аксиомы, об изменчивости видов и о возможности происхождения новых видов от старых во все геологические эпохи, не исключая и современной». Этими словами определяется все содержание статьи и из них видно, в каком направлении трактуется А. А. Ячевским вопрос об эволюции грибных организмов.

Что касается путей образования новых форм у грибов, то А. А. Ячевский считает их многообразными. «Из этой краткой сводки,— пишет он в конце своей статьи,— можно убедиться лишний раз, насколько разнообразны и подчас и сложны те пути, которыми располагает природа для достижения своих целей».

Признание больших заслуг А. А. Ячевского в области микологии видно уже из того, что в честь его названо много видов и даже роды грибов. Известен, например, род Jaczewskia из Gasteromycetales, описанный в 1910 г. итальянским микологом Маттиролло. Образцы единственного вида этого рода (J. phalloides Matt.) были собраны в окрестностях г. Горького, а позднее еще в Японии. Вид Jaczewskiella из Melaneoniales описан К. Е. Мурашкинским. Один вид этого рода (J. altajensis Murashkinski) найден на Gomarum Salessowii Bge. в 1926 г. на Алтае.

В области фитопатологии наиболее известны его незаконченная «Фитопатология» (1910), монография «Ржавчина хлебных злаков в России» (1909), «Краткий очерк микологии в применении к изучению болезней растений» (1912), «Болезни винограда» (1899), «Болезни клевера» (1911), «Болезни табака» (1914), «Болезни хлопчатника» (1931), «Справочник фитопатологических наблюдений» (1930) и много других.

Из этих книг особо следует выделить Справочник фитопатологических наблюдений. Он написан в связи с организацией в то время службы учета болезней растений. В нем содержатся подробнейшие списки болезней 136 культурных растений, причем особо выделяются виды, встречающиеся в СССР. Эти списки очень помогли в свое время вновь организуемым наблюдательным пунктам. Спискам предпослано обширное введение, где А. А. Ячевский излагает свои взгляды на службу учета, причем мысли, там высказываемые, вполне справедливы и не потеряли своего значения и в настоящее время. В самом начале он, между прочим, пишет: «Надо надеяться..., что в дальнейшем изучению больного растения (а не только паразита.— *М. Г.*) будет уделено такое же внимание, как в медицине, ходу болезни». А в конце книги он заявляет: «...учет повреждений, причиняемый болезнями растений, является чрезвычайно серьезным делом, но вместе с тем и трудным, требующим осторожного и умелого подхода». «Пользуясь уже имеющимся опытом и нащупывая новые пути,— пишет далее Ячевский,— при наших огромных пространствах и неисчислимых культурах, разнообразнейших условиях климата, фитопатология может достигнуть такого размаха и таких успехов, о которых трудно составить себе представление, но о которых хотелось бы мечтать» (стр. 87).

Так мог писать только человек, искренне любящий свое дело, болеющий за него, желающий ему невиданных успехов.

А. А. Ячевский первый в нашей стране установил наличие биологических форм (forma specialis) у возбудителя стеблевой ржавчины хлебных злаков, а также впервые выдвинули ряд мероприятий по борьбе с болезнями, вызываемыми этими грибами, причем значение некоторых из них остается и до сих пор.

Будучи широко эрудированным фитопатологом, А. А. Ячевский уделял внимание не только грибным болезням. Им впервые в СССР указано на наличие у нас бактериоза пшениц, в его лаборатории начали изучаться бактериозы хлопчатника, табака и ряда других культур. Наконец, его книга «Бактериозы растений», законченная незадолго до смерти и изданная посмертно (1935), является лучшей мировой сводкой по этому вопросу. Помимо огромного фактического материала, она содержит ряд весьма

интересных обобщений (главы о географическом распространении бактерий, способах заражения и реакции растения хозяина, взаимоотношения бактерий между собой и другими организмами).

Исследования вирусных болезней растений также не прошли мимо А. А. Ячевского. В 1924 г. по поручению «Союзкартофеля» он производил обследование картофельных посадок в Советском Союзе и впервые выявил наличие в нашей стране вирусных болезней этой культуры (или болезней вырождения по прежней терминологии). Помимо обстоятельного отчета о проведенной работе, напечатанного в 1925 г., он пишет и издает плакаты с детальным описанием и изображением в красках вирусных болезней картофеля. Это были первые сведения об этой группе болезней растений в нашей стране. Следует, между прочим, отметить, что А. А. Ячевский несколько переоценил значение морщинистой мозаики в явлении вырождения картофеля. Это оказалось в большей мере справедливым лишь для северной и средней полосы СССР. Что касается юга, где вырождение проявляется особенно резко, то там большую роль в этом явлении играет температурный фактор (что показали работы Т. Д. Лысенко). Кроме того, недавние работы К. С. Сухова и А. М. Вовка показали, что из вирусных болезней картофеля на юге первостепенная роль принадлежит столбуру [10]. Значение морщинистой мозаики на юге в какой-то степени сохраняется лишь для ранних сортов.

А. А. Ячевский также первый указал на наличие в СССР кольцевой пятнистости табака. Интересна его работа о ведьминых метлах картофеля (1926). Наконец, в 1928 г. он публикует сводную работу о современном состоянии знаний по вирусным болезням (или, как их тогда называли, болезнями вырождения), заканчивающуюся замечательными словами, обращенными к молодым ученым: «...нельзя не отметить, что эта тема дает богатейший материал для исследования молодых ученых фитопатологов и заслуживает особого внимания, как касающаяся не только практических достижений, но затрагивающая общие вопросы биологических законов широкого теоретического значения» [11]. Работы В. Л. Рыжкова, К. С. Сухова и других о природе растительных вирусов показывают, насколько прав был А. А. Ячевский.

А. А. Ячевский прекрасно понимал, что в основе фитопатологии должно лежать изучение взаимоотношений хозяина и паразита. «Без биологической основы фитопатология совершенно бессильна»,— писал он в очерке современного состояния фитопатологии у нас и за границей (1929), и там же: «при современных исследованиях проводится мысль о выяснении взаимоотношения паразита и питающего растения и в частности при изучении устойчивости и поражаемости учитывается как вирулентность паразита, так и реакция питающего растения».

А. А. Ячевский считал, что «фитопатолог, так же как и доктор, должен обладать основательными познаниями, проявлять находчивость и наблюдательность, соблюдать крайнюю осторожность и предвидеть последствия тех или иных явлений. При этом всякая шаблонность исключается и открывается широкое поле для личной инициативы, конечно на основе общих теоретических положений, без которых легко удариться в область опасных фантазий» [12]. И далее он пишет: «Чтобы победить врага, необходимо распознать его слабые стороны. Это и делается фитопатологами в отношении болезней и повреждений растений, но так как природа не легко выдает свои тайны, то для этого нужно время и знания. Между тем поспешными эмпирическими и мало обоснованными приемами в лучшем случае ничего существенного нельзя добиться, или, что

---

[10] К. С. Сухов и А. М. Вовк, Новое о столбуре картофеля. Советская агрономия, № 4, 1947.

[11] Материалы по микологии и фитопатологии, т. VII, 1928.

[12] Защита растений, № 2—3, 1926.

гораздо хуже, можно неудачными экспериментами подорвать в корне доверие населения и надолго скомпрометировать все дело».

А. А. Ячевский неоднократно подчеркивал, что «борьба с болезнями растений такая же государственная задача как здравоохранение и борьба с эпизоотиями», и, что «эффективность мероприятий по борьбе с болезнями растений теснейшим образом связана с состоянием культуры данного растения» [13].

А. А. Ячевский глубоко верил в будущее развитие науки в нашей стране. Выступая с заключительным словом на Третьем всесоюзном съезде ботаников (1928), А. А. Ячевский сказал: «учитывая громадную работу, проведенную на местах, оглядываясь на многочисленных участников съезда, самостоятельных опытных исследователей и молодых начинающих свою деятельность, мы можем спокойно смотреть на будущее. Многое сделано, еще больше остается сделать впереди, но силы не иссякают и дальнейшие исследования вширь и вглубь вполне обеспечены».

Тот широкий размах, который приняли у нас в Союзе исследования по микологии и фитопатологии за последние годы, показывают, насколько был прав А. А. Ячевский.

Как видно из этих высказываний, он был не только исследователем, но и блестящим организатором, создавшим и развивавшим на протяжении всей своей жизни сеть фитопатологических исследовательских учреждений. В центре это была сначала центральная фитопатологическая станция петербургского Ботанического сада, затем бюро по микологии и фитопатологии Ученого комитета и, наконец, микологическая и фитопатологическая лаборатория Института опытной агрономии, получившая имя ее создателя. На периферии эту роль играли сначала микологические отделения энтомологических бюро, а затем отделы фитопатологии станций защиты растений. В одной из своих статей («Защита растений», № 2—3, 1926) А. А. Ячевский дает подробную программу исследовательской деятельности по фитопатологии на станциях защиты растений. В частности, он там пишет: «пока станции защиты растений не будут обеспечены возможностью вести планомерную исследовательскую работу, до тех пор они не могут дать для практики то, что от них вправе ожидать». С этим трудно не согласиться.

А. А. Ячевский работал и по лесной фитопатологии, причем его перу принадлежит первая в России книга о грибных болезнях лесных пород (1897). Из других работ в этой области заслуживает быть отмеченной статья о буреломах и ветровалах в связи с грибными болезнями лесных пород. В этой работе он доказывает, что во время ураганов и других стихийных бедствий главным образом страдают деревья, пораженные дереворазрушающими грибами. Он заканчивает свою статью следующей мыслью: «...бури и ураганы являются в некотором смысле оздоровляющим элементом, так как они естественно устраняют совершенно негодные и даже опасные части насаждений». Далее он пишет, что эту работу должен довершать человек, удаляя из леса поваленные деревья [14].

А. А. Ячевский немало сделал и по изучению истории фитопатологии и микологии и особенно по увековечению памяти их деятелей. Достаточно напомнить подобный обзор истории микологии в его «Основах микологии», а также многочисленные некрологи умерших микологов и фитопатологов. Из них особенно запоминается его речь, посвященная памяти Эрвина Смита [15].

Помимо чисто научных заслуг А. А. Ячевского, которые, как видим, весьма велики, особо следует выделить его роль как популяризатора и пропагандиста науки, которой он посвятил свою жизнь.

---

[13] Современное состояние фитопатологии у нас и за границей. 1929, стр. 2 и 22.
[14] Материалы по микологии и фитопатологии, год V, вып. I, 1926.
[15] Защита растений, т. IV, № 4—5, 1927.

В. А. Траншель в статье, посвященной годовщине со дня смерти А. А. Ячевского писал: «Он (Ячевский — *М. Г.*) не упускал случая всюду устно и печатно распространять сведения о болезнях растений» [16]. Огромное количество плакатов, листовок, популярных статей и заметок, написанных им в начале девятисотых годов настоящего столетия, способствовало широкому распространению фитопатологических знаний среди агрономического персонала того времени. Неудивительно поэтому, что во всех уголках нашей страны имя А. А. Ячевского пользовалось широкой популярностью.

Отличительной чертой популяризаторской деятельности А. А. Ячевского является широкая пропаганда новейших достижений науки. В период начала применения формалина для борьбы с грибными болезнями растений им пишется ряд статей и плакатов по этому вопросу, среди которых наиболее известна брошюра: «Применение формалина для борьбы с грибными болезнями растений» (1912). Пропаганда необходимости борьбы с головней, и притом новейшими средствами, не оставлялась А. А. Ячевским до конца своей жизни. Уже в 1931 г. (за год до смерти) он написал брошюру по этому вопросу под заглавием «Победим головню», где он наряду с другими вопросами пропагандирует новое в то время средство для борьбы с головней — параформ.

Кажется, нет такой отрасли фитопатологических знаний, которые не популяризировались бы А. А. Ячевским. Головня и ржавчина злаков, фитофтора картофеля, болезни табака, винограда, клевера (до сих пор единственная брошюра по этому вопросу); фитопатологическая экспертиза семян, кила капусты, рак картофеля и многие другие вопросы впервые были широко освещены в печати А. А. Ячевским.

Между прочим «на основе заключения Микологической лаборатории им. А. А. Ячевского ввоз картофеля из-за границы был запрещен и, таким образом, опасность завоза болезни (рака — *М. Г.*) с клубнями была предотвращена» [17].

Блестящий знаток микологической флоры СССР, много экскурсировавший по стране, постоянно следивший за появлением новых болезней растений, он всегда о всех новинках сообщал в печати, сопровождая свои статьи интереснейшими комментариями [18].

Для того чтобы представить широту диапазона поездок А. А. Ячевского по Советскому Союзу, укажем, например, что он ездил на Кавказ для установления причин гибели апельсиновых деревьев и для изучения болезней винограда, в Воронежскую область для изучения ведьминых метел картофеля, в Сибирь для изучения закукливания овса и т. д.

Печатная пропаганда знаний — лишь одна из форм широкой популяризаторской деятельности, которую вел А. А. Ячевский. Не было, вероятно, ни одного, сколько-нибудь заметного совещания по сельскому хозяйству в период с 1900 по 1930 г., где бы не стоял доклад или не было выступления А. А. Ячевского. Заседания микологического отделения Русского ботанического общества, председателем которого бессменно в течение многих лет состоял А. А. Ячевский, являлись по сути дела небольшими фитопатологическими съездами, собиравшими много молодежи. Энтузиазм председателя этих собраний, его огромная эрудиция увлекали присутствующих. Просматривая списки лиц, которые бывали на этих заседаниях, сейчас, спустя уже много лет, можно видеть, сколько из них стало хорошими специалистами микологами и фитопатологами. Нет сомнения, что это произошло не без влияния А. А. Ячевского.

---

[16] Природа, № 2, 1933, стр. 74—75.

[17] Защита растений, № 2—3, 1926, стр. 13.

[18] См., например, его интересные работы «К вопросу о распространении ложной мучнистой росы на хмеле». Защита растений, V, 1928, стр. 525—600; «Новости русской микологической флоры». Материалы по микологии и фитопатологии, IV, вып. 2, 1922, стр. 3—15, и много других.

А. А. Ячевскому писало огромное число людей, и, вероятно, не было ни одного письма, которое он оставил бы без ответа. Автор этих строк, еще будучи студентом, обратился к А. А. Ячевскому за разъяснением некоторых вопросов, связанных с изучением рябухи табака. Он получил не только подробный ответ, но и целый пакет оттисков по интересующему вопросу. Переписка — это один из способов общения с массами. Она давала А. А. Ячевскому огромный материал и в то же время была своеобразной пропагандой фитопатологических знаний. На материалах переписки частично были построены известные «Ежегодники» (1903—1917) — книги, не потерявшие своего значения до настоящего времени.

А. А. Ячевский был хорошим лектором и много читал лекций на разного рода курсах, всегда собирая большое число слушателей.

Из написанных А. А. Ячевским более 500 работ очень большая часть принадлежит разного рода статьям, плакатам, заметкам в той или иной степени популяризирующим фитопатологические знания. Естественно, что такая огромная печатная продукция не могла иногда не сказаться на качестве выпускаемых им работ. На некоторых из них лежит печать поспешности, местами встречаются неточности.

Подводя итоги популяризаторской деятельности А. А. Ячевского, можно смело сказать, что он был ученым, несущим огромные, накопленные им знания в массы. Обладая исключительным личным обаянием, он не мог не оказывать влияния на молодых начинающих работников в целях популяризации любимой им науки. Автор никогда не забудет беседу с А. А. Ячевским в его рабочем кабинете в марте 1930 г., когда в короткой напутственной беседе с ним (после окончания курсов наблюдателей-фитопатологов) он стремился внушить интерес и любовь к изучению болезней растений. Вероятно, не один человек после таких бесед посвящал свою жизнь изучению грибов или болезней растений.

Мы сделали только краткий обзор, почти сухой перечень, может быть даже не всех вопросов, которыми занимался А. А. Ячевский за время своей деятельности. Просматривая написанные строки, поражаешься широте его интересов, широте того круга вопросов, которые были в поле зрения его мыслей и исследований. Остается пожелать, чтобы образ этого крупнейшего представителя русской микологии и фитопатологии был детально освещен в литературе. Его научная деятельность может служить примером для многих поколений.

Московская станция
Всесоюзного института
защиты растений

Получено 26.VII.1952 г.

РЕФЕРАТЫ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, МОРФОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

Hutton W. E. and ZoBell C. E., **Production of nitrite from ammonia by Methane oxidizing bacteria.** (Образование нитритов из аммиака метанокисляющими бактериями). J. Bact., v. 65, No. 2, pp. 216—219, 1953.

В работе приводятся экспериментальные данные по окислению аммиака до нитритов метанокисляющими бактериями. Организмы культивировались на среде, содержащей 0,1% NH_4Cl, 0,05% K_2HPO_4 0,01% $CaCO_3$ и 0,01% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ на дистиллированной воде. Опыты ставились в двух бутылках, соединенных между собой сифоном. В одну из бутылок вводилось 20 мл жидкой среды и 160 мл газовой смеси, которая состояла из 10% углекислоты, 40% метана и 50% кислорода. Другая бутылка наполнялась средой и закупоривалась ватной пробкой. Таким образом, когда газ потреблялся бактериями, жидкая среда переливалась из бутылки-резервуара в бутылку с культурой. Каждая бутылка была снабжена градуированной шкалой. Пробы культуральной жидкости для химических анализов отбирались при помощи шприца с соблюдением необходимых асептических предосторожностей. Нитриты обнаруживались реактивом Грисса и определялись количественно фотоэлектрическим колориметром Klett-Summerson. По реакции с бруцином судили о присутствии нитратов. Аммиак определялся реактивом Несслера. Анализы газа были сделаны методом Matuszak, а также посредством масспектрометра. Чистые культуры метанокисляющих бактерий выделены методом агаровых пластинок из накопительных культур, которые были получены из образцов морского ила и обычной почвы в результате пересевов на минеральную солевую среду с метаном. Культуры образуют круглые, выпуклые, бесцветные или жемчужного цвета колонии. Размер колоний от 0,1 до 5 мм в диаметре. Бактерии бесспоровые и грамотрицательные. Клетки имеют форму палочек 0,6—1,0 × 2,0—3,4 μ. Жгутики обычно отсутствуют, но клетки некоторых культур обладают одиночными полярными жгутиками. В отличие от роста пленкой, характерного для Methanomonas methanica, большинство культур при росте на жидких минеральных средах образуют муть. В работе авторы указывают на то, что, в отличие от гетеротрофных метанокисляющих бактерий, описанных Münz, ни одна из чистых культур, выделенных ими из среды, в которой метан служил в качестве единственного источника энергии, не могла развиваться на среде с пептоном в отсутствие метана. Такие вещества, как соли уксусной, молочной, глютаминовой кислот, глицерин, глюкоза, лактоза, сахароза, крахмал и аспарагин, также не могли служить в качестве единственного источника энергии. Но ни одно из этих веществ в концентрации 0,1% на минеральных средах не задерживало потребления метана культурами метанокисляющих бактерий, вопреки сообщению Aiyer, который утверждал, что после контакта с органическим веществом такие организмы полностью теряют способность окислять метан. Опыты с тремя различными чистыми культурами метанокисляющих бактерий показали, что эти организмы потребляют одинаково хорошо аммиак, нитраты, глютаминовую кислоту и пептон как источник азота. Потребление метана как единственного источника энергии было наибольшим в культуре 37 : 146—2 на среде с пептоном, достигая при 30° в течение 31 дня величины 38,9 мл. Оно было наименьшим в том случае, когда в исходную минеральную среду добавлялись нитраты, составляя при этом 31,9 мл. Культуры не развивались на средах с нитритами или глицином. Чистые культуры метанокисляющих бактерий, способные окислять аммиак до нитритов, при культивировании на среде Виноградского для Nitrosomonas теряли свою активность в атмосфере воздуха или смеси 90% воздуха с 10% углекислоты. Однако в атмосфере метана, кислорода и углекислоты культуры становились мутными, потребляли газ и образовывали нитриты. Авторы приходят к заключению, что одни и те же организмы могут окислять метан и аммиак. Из 67 накопительных культур метанокисляющих бактерий 21 культура была способна окислять аммиак до нитритов в присутствии метана. Ни одна из них не образовывала нитритов в отсутствие метана. Метанокисляющие бактерии в качестве источника азота могут использовать HN_4Cl, KNO_3, пептон или глютаминовую кислоту. Ни KNO_2, ни глицин они не используют. Для того чтобы окислять метан, такие организмы нуждаются в связанном азоте. Только определенные виды метанокисляющих бактерий способны окислять аммиак до нитритов. Они не образуют нитритов из нитратов.

В. Экзерцев

Pinghul Lin. **Utilisation of carbohydrates by Pseudomonas aeruginosa.** (Использование углеводов Pseudomonas aeruginosa). J. Bact., v. 64, № 6, pp. 773—783, 1952.

Исследовалось 45 штаммов Pseudomonas aeruginosa. Культуры выращивались на синтетической среде следующего состава: $(NH_4)_2SO_4$ — 2 г, $MgSO_4$ — 0,2 г, $CaCl_2$ — 0,1 г, NaCl — 0,2 г, K_2HPO_4 — 0,2 г, фенил-рот 0,2% 8 мл, дистиллированной воды — 1000 мл. К этому минеральному раствору добавлялись различные сахара в количестве 1,0%.

Опыты показали, что Ps. aeruginosa способен усваивать с образованием кислот следующие углеводы: глюкозу, галактозу, фруктозу, маннит, трегалозу и глицерин.

Ps. aeruginosa образовывал кислоты и на средах с арабинозой, ксилозой и маннозой, но рост в присутствии этих сахаров отсутствовал. Слабое кислотообразование наблюдалось на среде с рамнозой.

Совершенно не используются Ps. aeruginosa одонитол, декстрин дульцит, инозит, инулин, лактоза, мальтоза, раффиноза, салицин, сорбит, сахароза и крахмал.

Потребление углеводов, пригодных для развития Ps. aeruginosa, подавляется добавлением к среде цитрата или суккината натрия.

При внесении в среду 0,1% пептона образование кислот из углеводов происходит быстрее, чем на синтетической среде. Однако сравнительно большое подщелачивание среды в присутствии пептона маскирует кислотообразование. Для Ps. aeruginosa пептон является одновременно и источником углерода и азота. Образование щелочи в среде с пептоном и глюкозой происходит быстрее, чем на чистом пептоне. Ps. aeruginosa сильнее подщелачивает пептонные среды, чем бактерии сем. Enterobacteriaceae и такие виды, как Aerobacter и Esch. coli.

Е. Рубан

Gavard R. et Milhaud G. **Sur un polysaccharide isolé de Clostridium butyricum.** (О полисахариде, изолированном из маслянокислого бацилла). Ann. Inst. Pasteur, t. 82, № 4, pp. 471—483, 1952.

Авторы поставили себе целью изучить, принадлежит ли полисахарид Clostridium butyricum к типу амилозы (неразветвленная цепь) или к типу амилопектина (разветвленная цепь).

Из 50—55 г высушенных до постоянного веса бактериальных клеток производилась экстракция полисахарида в 0,75 *N* щелочи в струе азота; после нейтрализации полисахарид осаждался алкоголем. Очистка производилась по методу Шорха (Schorch); для удаления остатков азота применялся метод Севаджа (Sevag) и метод стеариновой кислоты.

У полученного таким образом полисахарида изучались: 1) физические свойства (растворимость, удельное вращение, вязкость, молекулярный вес), 2) химические свойства (цветные реакции, состав полисахарида, действие β-амилазы, наличие остаточного декстрина, потенциометрические измерения и др.).

В результате было выяснено, что выделенный полисахарид представляет собой большую, высоко полимеризованную (степень полимеризации свыше 1100), сильно разветвленную молекулу, обладающую длинными внешними цепями и по некоторым свойствам сходную с амилозой, а по некоторым с амилопектином. Таким образом, было показано, что Clostridium butyricum обладает еще до сих пор неизвестным типом полисахарида, по своим свойствам промежуточным между амилозой и амилопектином.

А. Кривиский

Pinsky M. and Stokes J. **The influence of age on enzymatic adaptation in microorganisms.** (Значение возраста культуры для ферментативной адаптации микроорганизмов). J. Bact., v. 64, No. 3, pp. 337—345, 1952.

На штаммах E. coli и Pseudomonas fluorescens изучалось значение возраста культуры для процесса ферментативной адаптации бактерий. У E. coli исследовалась адаптационная способность к выработке редуктазы нитратов и муравьиной гидрогенлиазы, у Pseudomonas fluorescens — адаптация систем, окисляющих соли глюконовой и бензойной кислот. Опыты ставились в условиях, исключающих размножение клеток в течение периода адаптации.

Оказалось, что способность к адаптации неуклонно падает в течение периода активного (логарифмического) роста культуры, а в стационарном периоде быстро восстанавливается. Таким образом, адаптация легче осуществляется у более старых клеток по сравнению с клетками, находящимися в стадии физиологической молодости. Наилучшей адаптивной способностью обладают клетки, находящиеся в стационарной фазе.

Авторы полагают, что относительно слабая адаптационная способность молодых клеток связана с наличием конкуренции за необходимые структурные элементы — аминокислоты — между системами, которые синтезируют соответствующие ферменты, и другими синтетическими процессами в клетке. Поскольку с возрастом конкурирующие синтетические процессы замедляются, необходимые строительные материалы становятся доступными и для продукции адаптивных ферментов. Правда, как указывают авторы,

эта гипотеза применима не во всех случаях, так, например, по данным Хегарти, адаптивная карбогидраза Str. lactis лучше всего образуется у молодых клеток. Таким образом, связь между возрастом бактериальных клеток и формированием адаптивных ферментов может сильно варьировать в зависимости от данного конкретного организма и субстрата.

А. Кривиский

Augengar P. and Roberts E. **Inhibition of utilisation of glutamic acid by Lactobacillus arabinosus.** (Подавление усвоения глютаминовой кислоты у Lactobacillus arabinosus). Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med., t. 79, No. 3, pp. 476—481, 1952.

Участвуя в обменных реакциях, глютамин, вероятно, имеет особое значение в белковом синтезе. Исходя из этого, авторы поставили перед собой задачу попытаться отыскать соединение, которое интерферировало бы с глютаминовой кислотой в глютаминовом метаболизме и тем самым нарушило бы механизм белкового синтеза.

Поскольку содержание свободного глютамина в нормальных животных тканях значительно выше, чем в опухолевых, то обменные процессы в последних должны быть более чувствительны к интерферирующему действию и, следовательно, синтез белков опухолевой ткани может быть избирательно нарушен.

В качестве тест-объекта для изучения соединений, нарушающих глютаминовый метаболизм путем подавления синтеза глютамина или путем блокирования его усвоения на следующих ступенях обмена, авторы выбрали Lactobacillus arabinosus штамм 17—5, который в одинаковой степени может быть использован в опытах с глютаминовой кислотой и с глютамином. Было изучено действие 10 соединений. Подавляющее действие учитывалось нефелометрически. Авторам удалось найти два соединения, удовлетворяющие поставленным требованиям; α-метил-глютаминовая кислота и β-окси-глютаминовая кислота А, добавляемые в концентрации от 40 до 3000 γ на пробирку, являются наиболее мощными ингибиторами синтеза глютамина из глютаминовой кислоты у Lactobacillus arabinosus. Предварительные опыты над раковой линией белых мышей С 57_6 показали, что α-метил-глютаминовая кислота подавляет действие карбоксилазы глютаминовой кислоты в ткани мозга. Авторы обращают внимание, что в некоторых случаях подавляющее действие α-метил-глютаминовой кислоты может быть преодолено культурой Lactobacillus arabinosus. Это указывает на необходимость учета результатов опыта в разные интервалы времени.

А. Кривиский

Landman O. E. a. Bonner D. M. **Neurospora lactase I. Properties of lactasa preparation from a lactose utilising and a lactose nonutilising strain.** (Лактаза Neurospora I. Свойства лактазы, полученной из штаммов, потребляющих и не потребляющих лактозу). Arch. Biochem. a. Biophys., v. 41, No. 2, pp. 253—265, 1952.

Исследовались штаммы Neurospora хорошо растущие на сахарозе и лактозе, и лактозо-негативные штаммы. Последние были получены под воздействием ультрафиолетовых лучей или путем обработки конидий ипритом.

Грибы выращивались в колбах Эрленмейера с 15 мл среды, содержащей 20 г источника углерода на 1 л среды при 25°.

Выросшая мицелиальная масса отмывалась от среды дистиллированной водой на фильтре и спрессовывалась в плотные подушечки, которые подвергались лиофильной сушке и хранились в вакуум-эксикаторе.

При приготовлении экстракта мицелиальная масса растиралась в тонкий порошок и в особом приборе экстрагировалась дистиллированной водой из расчета 0,03 мл воды на 1 мг мицелия. Пробирки с водой и мицелием встряхивались в течение 7—15 часов при 4°, этим достигалась полная экстракция ферментов. Затем смесь центрифугировалась, жидкость декантировалась и сохранялась на холоду до момента определения. Количественные определения проводились по методу Lederberg, основанном на образовании окрашенного соединения ортонитрофенил галактозидазы. 10^{-6} М ортонитрофенил-β-D-галактозидазы в 0,4 мг 0,1 М фталатного буфера при pH-5 (раствор фталата калия доводился NaOH до pH-5), смешивался с 0,1 мл энзимного препарата. Раствор выдерживался в водяной бане при 40° определенное время, затем для инактивации фермента к смеси добавлялось 4,5 мл 0,025 *N* NaOH и определялось количество свободного ортонитрофенила по его окрашенным таутомерным формам.

Интенсивность окрашивания определялась в фото-электроколориметре.

Результаты исследований показали, что штамм Neurospora, не использующий лактозу в качестве источника углерода, образует активный энзим β-*D*-галактозидазу. Не было обнаружено разницы в количестве энзима, образованного штаммом, использующим лактозу, и штаммами, потерявшими эту способность.

Авторы приходят к выводу, что у штамма, потерявшего способность усваивать лактозу, произошли качественные изменения части энзимной молекулы или изменения механизма образования фермента без сопутствующих изменений его специфичности.

Е. Рубан

Scheffner A. and Lindegren C. **Adaptation to the prefermentative oxidation of galactose.** (Об адаптации к окислению галактозы до ее сбраживания). J. Bact., v. 64, No. 3, pp. 423—430, 1952.

Для того чтобы избежать так называемого преадаптивного окисления, большинство исследований по адаптации дрожжей к галактозе проводилось до сих пор в анаэробных условиях. Недавно было показано (Паллерони и др. 1952), что при применении очищенной от посторонних углеводных примесей галактозы преадаптивного окисления не наблюдается.

В настоящих опытах авторы также применили очищенную галактозу. В этих целях в раствор галактозы добавлялись неадаптированные хлебопекарные дрожжи, которые в течение 30—60 минут утилизировали все углеводные примеси; после центрифугирования надосадочная жидкость, содержавшая очищенную галактозу, фильтровалась, выпаривалась до сиропа и перекристаллизовывалась. Адаптируемые дрожжи (Saccharomyces cerevisiae) развивались в синтетической среде с глюкозой или спиртом в качестве единственного источника углерода. Показателем адаптации служило потребление O_2 и аэробное выделение CO_2. Измерения производились в манометре Варбурга. Опыты показали, что адаптация начинается приблизительно через 60 минут после добавления галактозы; брожение начинается не ранее, чем через 100 минут после начала адаптации. На скорость адаптации влияет концентрация галактозы; при снижении концентрации до 0,1% адаптация начинается только через 90 минут, а брожение вообще не происходит. Таким образом, адаптация к галактозе у Sacch. cerevisiae является адаптацией процесса усвоения, которая может быть показана как путем окисления так и путем брожения. Результаты работы свидетельствуют о том, что не существует предварительной адаптации к окислению.

А. Кривиский

Lemoigne M., Girard H. et Jacobelli G. **Bactérie du sol utilisant facilement le 2—3-butanediol.** (О почвенной бактерии, легко усваивающей 2—3-бутанодиол). Ann. Inst. Pasteur, t. 82, No. 4, pp. 389—397, 1952.

2—3-бутанодиол является частым и обычным продуктом разложения углеводов микроорганизмами почвы. Авторами настоящей статьи ранее было показано, что это соединение разрушается и усваивается некоторыми микроорганизмами. Настоящая работа посвящена бактериологическому изучению одного из таких почвенных микробов. Опыты велись на кремневых пластинках Виноградского, которые пропитывались 450 мг 2—3-бутанодиола и от 0 до 100 мг $NaNO_3$. На поверхность геля помещалось 20 комочков почвы. В отсутствие источника азота чашки оставались стерильными или вокруг комочков развивалась только культура азотобактера (Azotobacter chroococcum), но при добавлении $NaNO_3$ в 18 из 25 исследованных образцов почв разнообразного происхождения наблюдалось интенсивное развитие одного и того же микроорганизма, причем в тех почвенных образцах, откуда он выделялся, колонии обрастали все почвенные комочки, что указывает на массовое распространение микроорганизма в этих почвах.

Были подробно изучены морфологические, культуральные, биохимические свойства, потребность в витаминах, отношение к антибиотикам, патогенность для белых мышей. Электронно-микроскопическое изучение показало, что выделенный микроорганизм принадлежит к группе мелких кокков ($д = 0{,}8\ \mu$). Микроорганизм не красится по Граму, строгий аэроб, в присутствии 2—3-бутанодиола утилизирует азот из нитратов, аммония и мочевины, обладает слабой протеолитической способностью, желатины не разжижает, хорошо утилизирует 2—3-бутанодиол и натриевую соль β-оксимасляной кислоты. Обходится без ростовых факторов в присутствии 2—3-бутанодиола, но нуждается в них, когда источником углерода является глюкоза. Резистентен к пенициллину, но чувствителен к стрептомицину, ауреомицину, хлоромицетину, террамицину. Слабо патогенен для белых мышей.

По комплексу своих признаков стоит ближе всего к роду Neisseria или Moraxella. Исходя из морфологии, авторы считают возможным поместить изученный микроорганизм в род Neisseria и предлагают название Neisseria winogradskyi. В заключение авторы обращают внимание на чрезвычайную пригодность метода кремневых пластинок Виноградского для изучения ряда биохимических вопросов.

А. Кривиский

Blachére H., Villecourt P. et Jacobelli G. **Utilisation en compétition du β-hydroxybutyrate de sodium par Neisseria winogradskyi.** (Конкуренция Neisseria winogradskyi при усвоении натриевой соли β-оксимасляной кислоты). Ann. Inst. Pasteur, t. 83, № 3, pp. 391—392, 1952.

В минеральной среде с натриевой солью β оксимасляной кислоты, засеянной частицами почвы, кроме Pseudomonas fluorescens развивается микробная флора, состоящая из неподвижных мелких кокков диаметром менее 1 μ. Эти кокки были найдены в образцах 28 почв, различно обрабатываемых и взятых из разнообразных районов. Подробное изучение 9 штаммов чистых культур кокка, выделенных на кремневых пластинках Виноградского, пропитанных минеральной средой с натриевой солью β-оксимасляной кислоты, показало, что этот микроорганизм идентичен Neisseria winogradskyi (см. предыдущий реферат).

А. Кривиский

Kozloff L. **Biochemical studies of virus reproduction.** (Биохимические исследования репродукции вируса). J. Biol. Chem., v. 194, No. 1, pp. 83—108, 1952.
VI. The breakdown of bacteriophage T $6r^+$ (Разрушение бактериофага T $6r^+$).
VII. The appearance of parent nitrogen and phosphorus in the progeny. (Появление родительского азота и фосфора в потомстве).

Опыты проводились с радиоактивным фагом T $6r^+$ меченым N^{15}, P^{32} или одновременно обоими изотопами. Культура кишечной палочки штамма B заражалась радиоактивным фагом. После лизиса исследовалось распределение радиоактивности в фаговом «потомстве» и других фракциях лизата. Опыты с N^{15} меченым фагом показали, что большая часть фагового «родительского» азота появляется в неосаждаемой после суперцентрифугирования фракции в виде низкомолекулярных соединений (частично в виде свободных аммиака и амидов) и в бактериальных остатках. В фаговое потомство переходит только 18% «родительского» азота. Таким образом, до 80% азота, содержавшегося в исходном фаге, не переходит в потомство. Независимо от числа инфицирующих клетку фаговых частиц процент разрушения остается постоянным, но абсолютное количество разрушенного вещества исходного фага пропорционально количеству инфицирующих частиц.

После заражения клеток фагом, меченым радиоактивным фосфором, в фаговом потомстве было найдено около 44% исходной радиоактивности. 20% исходной радиоактивности было обнаружено в виде низкомолекулярных соединений в надстоящей жидкости суперцентрифугата.

Концентрация родительского материала в потомстве обратно пропорциональна урожаю фаговых частиц на клетку.

Количественное отношение N^{15} дезоксирибонуклеиновой кислоты к N^{15} белка в исходном фаге и в его потомстве было различным. В опытах, где применялся исходный фаг, одновременно содержавший радиоактивные азот и фосфор, было показано, что в фаговое потомство переходит больше радиоактивного фосфора, чем азота. Из этих опытов становится ясным, что нуклеопротеид родительского фага переходит в потомство только после распада на мелкие фрагменты, причем распадается и дезоксирибонуклеиновая часть.

В потомство радиоактивного фага, облученного различными дозами ультрафиолета и рентгена (следовательно, поврежденного в различной степени), переходит одно и то же количество радиоактивного азота.

Если культура одновременно заражается радиоактивным фагом T_6 и нерадиоактивным, отличающимся по ряду признаков фагом T_7, то в потомстве фага T_6 содержится 37% радиоактивного фосфора, а в потомстве фага T_7 4,6% P^{32}. Поскольку оба фага не могут репродуцироваться в одной и той же клетке, этот опыт показывает, что для синтеза фага T_7 частично используются продукты распада дезоксирибонуклеиновой кислоты исходного фага T_6, продиффундировавшие из клетки в питательную среду.

Все вышеизложенные опыты показывают, что нуклеопротеиды фаговых частиц после внедрения фага в бактериальную клетку разрушаются, превращаясь в соединения относительно низкого молекулярного веса, часть которых неспецифически используется при синтезе фагового потомства. Автор подчеркивает, что эти данные опровергают морганическую гипотезу (Лурия и др.), согласно которой исходный фаг после внедрения в клетку распадается на отдельные специфические «генетические» единицы, отождествляемые морганистами с нуклеопротеидами, которые в качестве «наследственного вещества» в неизмененном виде будто бы переходят и сохраняются в фаговом потомстве.

А. Кривискій

Koch A., Putnam F. and Evans E. **Biochemical studies of virus reproduction. VIII. Purine metabolism.** (Биохимические исследования по репродукции вирусов. VIII. Метаболизм пуринов). J. Biol. Chem., 197, No. 1, pp. 113—120, 1952.

Изучался пуриновый метаболизм кишечной палочки штамма B, зараженной фагом T $6r^+$. Для изучения бактериальных источников фагового пурина меченые C^{14}-пуринами бактерии заражались фагом в немеченой среде; для изучения включения в фаговые пурины соединений внешней среды немеченые бактерии заражались фагом в питательной среде, содержавшей радиоактивные пурины и $N^{15}H_4Cl$. Для получения единственной генерации фага каждая бактериальная клетка заражалась 4—6 фаговыми частицами.

Опыты показали, прежде всего, что бактерии и фаг имеют различное содержание пуринов: фаг содержит больше аденина, а бактерии больше гуанина. В опытах, где бактериальные клетки содержали C^{14} только в 6-м или 8-м углеродном атоме пуринового кольца и N^{15} в аминогруппах пурина, было показано, что фаговые гуанин и аденин частично происходят непосредственно из неизмененных (в отношении кольца и аминогрупп) клеточных пуринов, имевшихся в клетке до ее инфекции фагом. Содержание фагового гуанина, происходящего из пуринов клетки, синтезированных до ее инфекции фагом, колеблется от 18,8 до 34,6% общего гуанина фага, фагового аденина — от 14% до 23%. Клеточным источником фаговых пуринов являются только пурины бактериальной клетки, остальные клеточные компоненты не участвуют в пурино-

ром метаболизме зараженной фагом клетки. Наибольшая часть фаговых пуринов синтезируется уже после инфекции из пуринов или низкомолекулярных соединений ($N^{15}H_4Cl$) питательной среды.

А. Кривиский

Beumer I. et Beumer-Jochmans M. **Etude des phages produits par le bacille lysogène de Lisbonne et de leurs exigences en calcium.** (Изучение фагов, продуцируемых лизогенным штаммом кишечной палочки Лисбонн и их потребности в кальции). Ann. Inst. Pasteur, t. 83, N 5, pp. 582—594, 1952.,

Изучалась потребность в кальции фага L, продуцируемого лизогенной культурой кишечной палочки (штамм Лисбонн и Каррер). В качестве культур-индикаторов применялись 7 штаммов дизентерийных бактерий Флекснер и Шига. Титрование фагов производилось по методу Грация (1936), кальций добавлялся в питательную среду в виде $CaCl_2$.

Изучение отношения этих 7 штаммов к фагу показало, что они могут быть разделены на 3 группы: 1) 3 штамма лизировались только в присутствии кальция; 2) 2 штамма лизировались в простом бульоне в отсутствие щавелевокислого натрия; 3) 2 штамма лизировались в простом бульоне в присутствии щавелевокислого натрия. Эти опыты заставили авторов предположить, что фаг L на самом деле состоит из нескольких линий фагов, которые различаются по своей потребности в кальции. Опыты по селекции исходного фага на различных культурах в присутствии и отсутствие кальция, выделение чистых линий фагов из отличающихся по своей морфологии стерильных пятен исходного фага и данные адсорбции подтвердили это предположение. Оказалось, что фаг L, продуцируемый лизогенной культурой, состоит из 2 групп фагов, включающих не менее 4 различных фагов. К первой группе относится один фаг, который лизирует культуры только в присутствии кальция. Кальций необходим этому типу фага для адсорбции на чувствительной клетке, но не исключено его значение и в дальнейшей реакции. Ко второй группе относятся три типа фагов, которые не нуждаются в кальции для адсорбции, но отличаются между собой по способности к развитию в присутствии щавелевокислого натрия, по форме стерильных пятен и по своей проходимости через градоколовые мембраны. Все типы фагов продуцируются не только исходным штаммом Лисбонн, но и его многочисленными вариантами.

А. Кривиский

НОВЫЕ И УБЕДИТЕЛЬНЫЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВА РЕПРОДУКЦИИ ВИРУСОВ РАСТЕНИЙ В ОРГАНИЗМЕ НАСЕКОМЫХ

(Сводный реферат)

Уже начиная с 1935 г., рядом исследователей были проведены опыты, свидетельствующие о том, что по крайней мере, вирус желтухи астр и вирус карликовости риса, повидимому, способны репродуцироваться в организме насекомых, специализированных переносчиков этих вирусов. В опытах Фукуши (Fukushi [4]) в одном случае седьмое поколение цикадки, зараженной вирусом карликовости риса, все еще было способно заражать здоровые растения. В течение опыта цикадки находились только на иммунных растениях, не содержавших вируса карликовости риса.

Кункель (Kunkel [5]) выдерживал переносчиков желтухи астр при температуре 32°. В результате насекомые утратили свою инфекционность, которая после их охлаждения через некоторое время восстановилась. По мнению автора, нагревание привело к инактивации почти всех содержащихся в организме цикадки частиц вируса. Сохранившие активность частицы после охлаждения размножились, и поэтому насекомые снова стали вирофорными.

Блэку (Black [2]) удавалось в отдельных опытах заражать астры с помощью цикадки, которой предварительно вводился разведенный (1 : 1000) экстракт из зараженных этим вирусом насекомых. По свидетельству Блэка, в организме цикадки через некоторое время после заражения, количество вируса возрастало приблизительно в 100 раз.

Авторы этих работ рассматривают свои опыты как доказательство размножения вирусов растений в организме насекомых-переносчиков.

Эти выводы весьма ответственны, а трактовка результатов опытов не является бесспорной. По поводу работ Фукуши, Кункеля и Блэка были высказаны возражения (Боуден [1]). Приведем некоторые из них.

1. Питаясь длительное время на больных растениях, цикадки получили значительное количество вирусных частиц, которые, накопившись в яйцеклетках, могли затем в единичных случаях механически передаваться потомству.

2. Увеличение количества вируса в организме насекомого, по опытам Блэка, незначительно.

3. В опытах Кункеля могло иметь место не размножение, а реактивация вируса.

Таким образом, этот весьма интересный и принципиально важный вопрос был возвращен на исходные позиции: возможна ли в действительности репродукция вирусов растений в организме насекомых?

Боуден считает, что «все данные, приводимые в подкрепление такого взгляда, допускают различные толкования».

Две недавно опубликованные работы являются положительным решением этого вопроса.

Первая работа проведена с вирусом, вызывающим деформацию листьев клевера (clover club-leaf virus) [3]. Опыт продолжался непрерывно более пяти лет. За этот период от одной вирофорной цикадки было получено двадцать одно поколение. Все эти насекомые воспитывались исключительно на иммунных растениях, а именно на люцерне, в тканях которой этот вирус не находится, и поэтому единственным источником вируса была исходная вирофорная цикадка. Тем не менее инфекционность цикадки 21-го поколения оказалась не ниже, чем у исходной. В этом случае уже невозможно говорить о механическом переносе вируса от исходной вирофорной цикадки, потому что это было бы равносильно разведению вируса $1 : 2{,}8 \times 10^{25}$, что теоретически невозможно. Если принять концентрацию вируса в насекомом около 1%, то в вирофорной самке (исходной) могло находиться не более 1×10^{12} вирусных частиц. В контрольных опытах не было ни одного случая заражения при испытании целого ряда поколений цикадок, которые не имели вирофорных родителей. Таким образом, результат этих опытов — веское доказательство способности вируса деформации листьев клевера репродуцироваться не только в клетках чувствительного к этому вирусу растения, но и в организме переносчика (цикадка Agalliopsis novella). И наконец, наиболее убедительные доводы в пользу возможности репродукции вируса растений в организме насекомого приведены в опубликованной в 1952 г. работе Мараморoша (Maramorosch [6]). Опыты в данном случае проводились с вирусом желтухи астр в специально оборудованном инсектарии, при строго контролируемых условиях влажности, температуры, света и т. д. Цикадки-переносчики желтухи астр (Macrosteles divisus) содержались на иммунных к этому заболеванию растениях (рожь). Сущность опыта заключалась в следующем. Из вирофорных цикадок приготовлялась кашица, разбавлявшаяся в физиологическом растворе (разведение 1 : 1000). После центрифугирования вводилось в брюшко цикадкам специально изготовленной микропипеткой, точно по 1/8000 мл этой жидкости.

Зараженные таким образом цикадки были через 30 дней использованы с применением той же методики для следующего заражения. Всего было проведено 10 таких серийных пассажей. Каждый пассаж приводил к разведению пробы в 1000 раз. Следовательно, цикадки последней партии могли бы получить вирус механическим путем от первой партии вирофорных цикадок в разведении 10^{-40}, что совершенно невозможно. Как видно из таблицы, цикадки последней партии содержали вирусных частиц не в меньшей степени, чем исходные вирофорные цикадки.

Серийные пассажи вируса желтухи астр через насекомых-переносчиков

Порядковый номер пассажа	Число насекомых, подвергшихся заражению	Испытывалось на инфекционность цикадок	Из них вызывали заболевание астр	Данный пассаж соответствует разведению
1	200	36	8	10^{-4}
2	300	16	3	10^{-8}
4	300	34	5	10^{-16}
6	200	22	5	10^{-24}
8	240	12	4	10^{-32}
9	50	16	6	10^{-36}
10	50	4	1	10^{-40}

Результаты этих экспериментов позволяют сделать важные теоретические выводы. Основным выводом является то, что нет оснований рассматривать вирусы растений и вирусы животных как принципиально различные образования. Не лишена логичности высказанная на основании этих опытов гипотеза о том, что вирус желтухи астр и некоторые другие вирусы, относящиеся к так называемой группе желтух, должны рассматриваться как вирусы насекомых, оказавшиеся приспособленными в процессе эволюции к репродукции в растительной клетке.

Весьма интересно, что эти вирусы, являясь вредоносными для соответствующих растений, не вызывают каких-либо поражений в организме насекомых. Как известно, только строго определенные виды насекомых способны передавать то или иное заболевание типа желтух. Возможно, что эта специфичность обусловлена репродукцией вирусных частиц именно в клетках только этих насекомых. Укажем еще одно важное обстоятельство, имеющее значение для эпифитологии. Ведь если тот или иной вирус оказывается способным репродуцироваться в организме насекомых, то распространение этого вируса вовсе не обязательно может быть связано только с наличием в данной местности больных растений. Резервуаром вируса растений, их источником могут

быть в таких случаях насекомые. Эти соотношения было бы весьма важно выяснить при изучении таких хозяйственно важных заболеваний, как столбур томатов и др.

Не подлежит сомнению, что расширение и развитие вирусологических исследований, связанных с изучением вирусов, способных репродуцироваться как в животных, так и в растительных клетках, весьма перспективно и имеет большое значение в свете учения о живом веществе.

М. Гольдин

ЛИТЕРАТУРА

1. Боуден Ф. Вирусы и вирусные болезни растений. Изд.-во иностр. лит. 1952.
2. Black L. Further evidence for multiplication of the aster-yellows virus in the aster leaf hopper. Phytopath., **31**, 120, 1941.
3. Black L. A plant virus that multiplies in its insect vector. Nature, **166**, 852, 1950.
4. Fukushi T. Retention of virus by its insect vectors through several generations. Rev. appl. mycology **18**, 613, 1939.
5. Kunkel, L. Effect of heat on ability of Cicadula sexnotata to transmit aster-yellows. Amer. J. Bot., **24**, 316, 1937.
6. Maramorosch K. Direct evidence for the multiplication of aster-yellows virus in its insect vector. Phytopath., **42**, 59, 1952.

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

М. В. Федоров. **Биологическая фиксация азота.** 2-е издание, М., стр. 671, 1952.

Второе издание книги проф. М. В. Федорова «Биологическая фиксация азота атмосферы» значительно переработано и дополнено по сравнению с изданием 1948 г.

Главную часть книги составляет изложение собственных экспериментов автора. Объем книги превышает сорок листов. В книге освещены вопросы морфологии, физиологии, распространения и применения азотоусвоителей в сельском хозяйстве.

После краткого изложения (во введении) вопроса о запасах азота в природе, путях использования азота атмосферы в сельском хозяйстве и истории открытия азотофиксирующих бактерий, автор переходит к первой — основной части своей книги — фиксации атмосферного азота свободно живущими почвенными бактериями (глава 1 –20).

В первой главе этой части автором рассмотрены общая морфология и систематика азотобактера, а также азотофиксирующие виды, близкие к азотобактеру.

Главу вторую автор посвящает общей физиологии азотобактера, показывая значение для этого организма различных источников углерода, а также источников азота, серы, фосфора и других элементов. Особое внимание уделяется роли молибдена и бора в фиксации азота, а также значению коллоидных веществ, дополнительных факторов роста, необходимых для азотобактера и его углеводному обмену, составу ферментного комплекса и химическому составу клетки.

Главы 3—11 почти целиком посвящены механизму фиксации элементарного азота азотобактером и экспериментам, поставленным автором для доказательства своих положений.

Наибольшее внимание М. В. Федоров уделяет химизму фиксации атмосферного азота.

Отметив значение для азотофиксации соединений углерода и рассмотрев значение водорода, связанного с углеродом, на основании опытов с поверхностно-активными веществами и наркотиками, автор приходит к выводу, что в клетках азотобактера фиксацию азота определяет присутствие особого специфического катализатора, связанного со структурой плазмы клетки азотобактера.

Следующие главы книги посвящены экспериментам и гипотезам в области определения природы этого катализатора, точнее основных химических групп, входящих в состав катализатора.

Автор считает, что катализатором, который образуется в процессе развития клетки, является двухкомпонентный специфический комплекс (фермент), состоящий из активной группы и коллоидного носителя.

$$\mathrm{Prot-R-CH(NH_2)-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-COOH}$$

Основу катализатора составляют две карбонильные группы (а также карбоксил и аминогруппа).

Коллоидным носителем является белок. Первая стадия процесса фиксации является присоединением к кислородам обеих карбонильных групп молекулярного азота, причем двойные связи, существовавшие между кислородом и углеродом карбонилов, разрываются и образуются двойные связи между двумя атомами углерода и двумя атомами присоединившегося активированного азота по следующей схеме:

$$\mathrm{Prot_1-R-CH(NH_2)-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-COOH + N_2 \rightarrow}$$

$$\mathrm{\rightarrow Prot_2-R-CH(NH_2)-\underset{\underset{N}{|}}{\overset{\overset{O}{|}}{C}}=\underset{\underset{N}{|}}{\overset{\overset{O}{|}}{C}}-COOH}$$

Для протекания этой фазы требуется о-в потенциал около 100 мв.

Вторая фаза заключается в восстановлении первичных продуктов фиксации активным водородом, мобилизуемым дегидразами из органического вещества.

Для этого требуется смена коллоидного носителя — $Prot_1$ на $Prot_2$ причем последний должен иметь более низкий о-в потенциал (около — 200 мв).

В качестве конечных продуктов восстановления могли бы получиться производные гидразина, а затем аминокислоты, потребляемые клеткой для синтеза белковых веществ.

Высказанные автором соображения представляют большой интерес для объяснения механизма азотофиксации, а также данных других исследователей и его собственных. К сожалению, соображения М. В. Федорова все же недостаточно обоснованы экспериментами. В частности, автором экспериментально не доказано существование всех вышеназванных химических групп в клетке азотобактера. Например, не ясна природа группы, обозначаемой им как R. М. В. Федоров считает возможным принять ее чисто гипотетически за карбоксил (COOH). При таком допущении активная группа катализатора будет представлять собой дикетоаминоглютаровую кислоту.

Автором не сделано также попытки выделения катализатора из клетки азотобактера, и не проделаны эксперименты с синтетически полученным катализатором.

Тем не менее весьма интересны доказательства, приводимые М. В. Федоровым о наличии в составе катализатора карбоксильной группы, амминной группы и карбонильных групп и о влиянии на азотофиксацию веществ, регирующих с катализатором, а также изучение первичных продуктов фиксации и отношение азотобактера к различным формам связанного азота (гл. 11).

Остальные восемь глав первой части книги посвящены описанию возможности практического применения азотобактера. Автор рассматривает фиксацию азота в смешанных культурах с другими микроорганизмами, влияние высшего растения на азотофиксацию, распространение азотобактера в природе, влияние различных почв и компостов на фиксацию азота и, наконец, применение его как бактериального удобрения.

К сожалению, остались без рассмотрения важные вопросы: о целесообразности применения азотогена, о месте этого препарата в севообороте и, в частности, о возможности (и даже целесообразности) применения азотобактера на паровом поле.

Анаэробному фиксатору азота Clostridium Pasteurianum — отведено всего две главы (18, 19) при этом максимум внимания уделено химизму фиксации молекулярного азота этим организмом. Автор приходит к заключению, что процесс фиксации азота у Clostr. Pasteurianum протекает так же, как и у азотобактера. Автором разобраны особенности процесса азотофиксации в связи с своеобразной физиологией Clostr. Pasteurianum.

Вторая часть книги посвящена клубеньковым бактериям (20 глав). Рассмотрены их морфология, систематика и физиология. Детально рассмотрен вопрос об азотофиксирующей способности клубеньковых бактерий и механизме фиксации ими азота.

Автор приходит к выводу, что у клубеньковых механизм азотофиксации аналогичен таковому у азотобактера и Clostr. Pasteurianum, но имеет свои особенности, определяемые симбиозом с бобовым растением. Хотя это положение в значительной мере гипотетично, однако оно легко воспринимается, так как построено очень логично. Рассмотрен также вопрос о взаимоотношении с высшим растением и механизм образования клубеньков.

Большое внимание уделено также спорному вопросу о том, фиксируют ли клубеньковые бактерии азот без высшего растения. Основываясь на собственных экспериментах, автор приходит к выводу, что они осуществляют фиксацию азота самостоятельно. Он детально останавливается на условиях, в которых такая фиксация возможна, и на анализе причин, приведших ряд исследователей к отрицательному выводу.

Весьма большое внимание уделяет автор условиям образования клубеньков бобовыми растениями (стр. 50), затем распространению клубеньковых бактерий и влиянию бобовых растений на не бобовые.

К сожалению, нитрагину и его применению уделена всего одна глава. Нельзя было, однако, оставлять без ответа важный для сельскохозяйственной практики вопрос о том, сколько лет действует внесенный под бобовые нитрагин и в какой форме его целесообразнее применять.

Приходится пожалеть, что из ценной монографии М. В. Федорова исключен указатель иностранной литературы. Об этом указателе Н. А. Максимов так говорил еще в предисловии к первому изданию монографии: «Особенно существенное значение для читателей специалистов будут иметь исчерпывающие ссылки на русскую и на иностранную литературу, полезность которых в первую очередь связана с тем, что они предотвратят возможность повторения уже пройденных этапов научной разработки этой важнейшей проблемы».

В заключение следует добавить, что было бы целесообразным разбить книгу на две части: 1. Теория фиксации азота азотофиксирующими бактериями и 2. Азотофиксирующие бактерии в сельскохозяйственной практике, тогда при сохранении тиража первой части равным 5000 экземпляров, тираж второй части мог бы быть значительно повышен.

К. И. Рудаков

БИБЛИОГРАФИЯ *

I. Общая микробиология

а) Общие работы, морфология, биология и систематика

Браславская Е. П. Деление как источник возникновения новых рас и видов микроорганизмов. Известия АН Арм. ССР, 1952, т. 5, № 11, стр. 15—32. Резюме на арм. яз.

Вайндрах Г. М. и Княжанский О. М. Д. И. Ивановский и открытие вирусов. 2-е переработ. изд., М., 1952, 52 стр. с илл.

Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве. Труды Конференции по микробиологии 1950 г. (Отв. ред. чл.-корр. АН СССР Н. А. Красильников). М., Изд-во Акад. наук СССР, 1952, 175 стр.

Гринбаум Ф. Т. Изменчивость патогенных микробов в зависимости от условий их обитания. Труды Конференции по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов, 1952, стр. 92—102.

Диденко С. И. Крупный ученый и общественный деятель. (К 25-летию со дня смерти Л. А. Тарасевича). Природа, 1953, № 2, стр. 85—87.

Залкинд С. Я. Размножение дрожжевых клеток как индикатор малых количеств химических веществ. Успехи совр. биологии, 1952, т. 34, вып. 3, стр. 473—77.

Иерусалимский Н. Д. О принципах и методах сохранения полезных свойств микроорганизмов при селекции. Труды Конференции по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов, 1952, стр. 68—81.

Иерусалимский Н. Д. Физиология развития чистых бактериальных культур. Автореферат дисс., представл. на соиск. уч. ст. д-ра биол. наук. М., 1952, 31 стр. (Ин-т микробиологии АН СССР).

Имшенецкий А. А. Изменчивость и селекция микроорганизмов. Труды Конференции по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов, 1952, стр. 11—37.

Калина Г. П. Вегетативная гибридизация и направленная изменчивость микроорганизмов. Труды Конференции по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов, 1952, стр. 82—91.

Касаткина И. Д. Сравнительная характеристика вариантов Penicillium. Автореферат дисс., представл. на соиск. уч. ст. канд-та биол. наук. М., 1952, 14 стр. (Ин-т микробиологии АН СССР).

Клейн Б. И. В. К. Высокович, крупнейший русский микробиолог. (К 40-летию со дня смерти). Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1953, № 1, стр. 76—79.

Конференция по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов. Москва, 1951. Труды Конференции по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов. 29 ноября — 1 дек. 1951 г. (Отв. ред. чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий). М., Изд-во Акад. наук СССР, 1952, 292 стр. с илл.

Косиков К. В. Гибридизация и селекция дрожжей. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве, 1952, стр. 50—63.

Косиков К. В. Направленная изменчивость и видообразование у дрожжей. Доклады АН СССР, 1952, т. 87, № 1, стр. 139—41.

Косиков К. В. Наследование вновь приобретенных ферментативных свойств дрожжей при половом размножении (спорообразование). Доклады АН СССР, 1952, т. 88, № 2, стр. 283—85.

Кривиский А. С. Биологическая природа бактериофага. Природа, 1952, № 10, стр. 45—56.

Крисс А. Е. и Тихоненко А. С. Строение корпускула бактериофага. Доклады АН СССР, 1952, т. 86, № 2, стр. 421—423.

Кудрявцев В. И. Новый метод селекции микроорганизмов. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве. 1952. стр. 31—32.

Кузьмин В. В. Об изменяемости Bac. perfringens в культуре десятилетней давности. Сборник работ Ленинградского ветерин. ин-та, 1952, вып. 13, стр. 86—89.

Муромцев С. Н. О природе пластических веществ микробов. Агробиология, 1952, № 5, стр. 135—149.

Муромцев С. Н. Проблема видообразования у микроорганизмов. Труды Конференции по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов, 1952, стр. 38—57.

* Составлена сотрудниками библиотеки Отделения биологических наук АН СССР под руководством доктора биологических наук Т. К. Лепина.

Овчаров К. Е. Дмитрий Иосифович Ивановский. 1864—1920. М., Изд-во АН СССР, 1952. 103 стр. с илл.

Пешков М. А. Микробы в природе и жизни человека. М., Госкультпросветиздат, 1952, 64 стр. с илл.

Прохоров М. И. Видообразование у кишечной палочки в результате направленной изменчивости. Сборник трудов Ленингр. науч.-исслед. вет. ин-та, 1953, вып. 5, стр. 133—142.

Рашба Е. Я. Роль нуклеиновых кислот в изменчивости микроорганизмов. Мікробіологічний журнал, 1953, вып. 1, стр. 59—65. Текст на укр. яз.

Рубенчик Л. И., В. Л. Омелянский. (1867—1928). Мікробіологічний журнал, 1953, т. 15, вып. 1, стр. 80—82. Текст на укр. яз.

Рыжков В. Л. О некоторых проблемах вирусологии. Вестник АН СССР, 1953, № 1, стр. 42—46.

Смородинцев А. А. и Кривиский А. С. Мир микробов. М., Воен. изд-во, 1952. 160 стр. с илл.

Стрешинский М. О. Различия в антагонистических свойствах микроорганизмов, развивающихся в чистых и смешанных культурах. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1953, № 2, стр. 74—76.

Тимаков В. Д. Направленная изменчивость микроорганизмов. Труды Конференции по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов, 1952, стр. 58—67.

Тимаков В. Д. Проблема изменчивости микроорганизмов. Актовая речь 24 ноября 1952 г. Действ. чл. АМН СССР лауреат Сталинской премии проф. В. Д. Тимаков. М., Изд-во Акад. мед. наук СССР, 1953, 32 стр. с илл.

б) Биохимия и физиология

Войновская-Кригер К. К. Исследование фотохимических свойств бактериохлорофилла. Автореферат дисс., представл. на соиск. уч. ст. канд-та биол. наук. М., 1952. 16 стр. (Ин-т биохимии им. А. Н. Баха АН СССР).

Граевский Э. Я. О температурной зависимости фотодинамического процесса. Доклады АН СССР, 1952, т. 83, № 2, стр. 215—217.

Губарев Е. М., Лубенец Е. К. и Галаев Ю. В. Химический состав некоторых фракций липидов дифтерийных микробов. Биохимия, 1953, т. 18, вып. 1, стр. 37—46.

Диланян А. М. и Тер-Маркосян С. Х. Спектральный анализ различных культур Saccharomyces ellipsoideus. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве, 1952, стр. 119—124.

Касимов Г. С. и Пакусин А. Г. Образование кристаллов магнийаммонийфосфата в результате жизнедеятельности микробов. Доклады АН Азербайдж. ССР, 1953, т. 9, № 1, стр. 37—44. Резюме на азербайдж. яз.

Китавин Г. С. Динамика активности каталазы при действии сулемы на дрожжи. Учен. записки Кишиневск. гос. ун-та, 1952, т. 4, стр. 97—101.

Кометиани П. А. Влияние окислительно-восстановительного потенциала на распределение электролитов в дрожжевой клетке. Труды Тбилис. гос. ун-та, 1952, т. 46, стр. 133—144. На груз. яз. Резюме на русск. яз.

Литвинов Л. С., Бакланова М. А., и Берг Р. И. О влиянии адсорбентов на работу ферментов микроорганизмов. I. Влияние адсорбентов на работу амилазы. Учен. записки Львовск. ун-та, 1952, т. 20, Сер. биол., вып. 6, стр. 59—63. На укр. яз. Резюме на русск. яз.

Мехтиева В. Развитие гетеретрофных бактерий в жидкой минеральной среде в отсутствие органических веществ. Доклады АН СССР, 1953, т. 89, № 1, стр. 177—180.

Одинцова Е. Н. Синтез витаминов дрожжевыми микроорганизмами. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве, 1952, стр. 125—129.

Першин Г. Н. Влияние бактерицидных и химиотерапевтических веществ на бактериальные ферменты. М., Медгиз, 1952, 288 стр.

в) Методы и техника исследования

Абдуллин Х. Х. и Кивалкина В. П. К методике изучения антагонистического действия аэробных микроорганизмов по отношению к анаэробам. Учен. записки Казанск. гос. вет. ин-та, 1952, т. 59, стр. 31—32.

Кублановская Г. М. О новой элективной питательной среде для актиномицетов. Доклады АН УзССР, 1952, № 11, стр. 51—53. Резюме на узбек. яз.

Мейсель М. Н. Оптические методы исследования строения и функционального состояния дрожжевых организмов. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве, 1952, стр. 105—118.

Родионов К. П. Сравнительная оценка новой бродильной среды из грибницы Aspergillus terricola. Гигиена и санитария, 1952, № 11, стр. 56.

II. Сельскохозяйственная микробиология

а) Почвенная микробиология, бактериальные удобрения

Афанасьева А. Л. и Тихомирова Л. Д. Действие гранулированных удобрений на микрофлору почвы. Агробиология, 1953, № 1, стр. 56—66.

Березова Е. Ф. Роль микроорганизмов в сельском хозяйстве. М., Сельхозгиз, 1952. 112 стр. с илл.

Бершова И. О. Влияние гексахлорана на бактерии почвы. Мікробіологічний журнал, 1952, т. 14, № 4, стр. 6—23. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Буромский И. Д. и Семихатова О. А. Микрофлора корней многолетних трав и ее динамика в течение вегетационного периода. За высокие урожаи сена и семян трав, 1953, стр. 39—45.

Буромский И. Д. Приживаемость азотобактера на корнях растений и влияние корневых выделений на его размножение. За высокие урожаи сена и семян трав, 1953, стр. 33—38.

Ванин С. И. и Ахремович М. Б. Методы исследования микоризных сеянцев и микоризных грибов в почве. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, Т. 2, вып. 2, стр. 213—230.

Ванин С. И. и Власов А. А. Изучение микориз древесных пород в СССР в связи с задачами степного лесоразведения (1948—1950). Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, Т. 2, вып. 2, стр. 9—23.

Власов А. А. Методика учета микоризности сеянцев. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, стр. 231—239.

Власов А. А. Микориза сеянцев дуба и ее развитие в условиях степи. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, вып. 2, стр. 68—106.

Возняковская Ю. М. Опыт выращивания и испытания чистых культур микоризных грибов. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, вып. 2, стр. 161—169.

Гамбашидзе К. К вопросу влияния бактериального удобрения — азотобактерина на сахаристость сахарной свеклы. Труды Грузинского с.-х. ин-та, 1952, т. 37, стр. 283—287. Текст на груз. яз. Резюме на русск. яз.

Гебгардт А. Г. О причинах угнетения азотобактера в ризосфере пшеницы. Учен. записки Львовского ун-та, 1952. Сер. биол., т. 20, вып. 6, стр. 47—58. На укр. яз. Резюме на русск. яз.

Гельцер Ф. Ю. Значение активной микоризы в питании дуба. Лес и степь, 1952, № 11, стр. 26—32.

Гельцер Ф. Ю. Приемы обработки желудей микоризным грибком и источники его получения. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, вып. 2, стр. 152—160.

Гнутенко М. П. и Тетеревятникова Е. А. Влияние грибов рода Aspergillus на азотобактер. Учен. записки Саратовского ун-та, 1952, т. 35, стр. 89—93.

Данелия М. К. Процесс денитрификации в красноземных почвах. Бюлл. Всесоюз. науч.-исслед. ин-та чая и субтроп. культур, 1952, № 3, стр. 163—170.

Елфимова Е. Н. Почва иллювиального горизонта солонцов как бактериальное удобрение. Вопросы травопольной системы земледелия, 1952, т. 1, стр. 164—172.

Зерова М. Я. и Воробьев Д. В. Микоризы и проблема лесоразведения в степи Украинской ССР. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, вып. 2, стр. 200—207.

Исследования по микоризам древесных растений в связи с задачами степного лесоразведения. (Материалы совещания при Микоризной комиссии, состоявшегося 20—23 ноября 1950 г.). М., Изд-во Акад. наук СССР, 1952. 247 стр. с илл.

Калниньш А. Д. Бактериофаг клубеньковых бактерий и его влияние на эффективность симбиоза клубеньковых бактерий с бобовым растением. Труды Ин-та микробиологии АН Латв. ССР, 1952, вып. 1, стр. 47—84.

Котелев В. В. Влияние различных изомеров гексахлорциклогексана на развитие азотобактера. Известия Молдав. филиала АН СССР, 1952, № 1—2, стр. 3—9. Резюме на молдав. яз.

Красильников Н. А. Микроорганизмы и плодородие почвы в свете учения В. Р. Вильямса. Агробиология, 1952, № 6, стр. 57—72.

Красильников Н. А. О взаимоотношениях почвенной микрофлоры с высшими растениями. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве, 1952, стр. 133—147.

Красовская И. В. Разработка приемов заражения сеянцев дуба микоризными грибами в засушливых условиях. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, вып. 2, стр. 107—128.

Кудрин С. А. Круговорот фосфора в почве и превращения в ней фосфатов удобрений. Агробиология, 1952, № 5, стр. 91—101.

Куликова Л. И. и Майборода Н. М. Совместное действие гранулированных удобрений и азотобактерина на урожай и посевные качества семян пшеницы. Сов. агрономия, 1953, № 2, стр. 27—30.

Купревич В. Ф. О физиологической роли микоризы. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, вып. 2, стр. 39—47.

Литвинов Л. С. Результаты научно-исследовательской работы по применению бактериальных удобрений за 1951 год. Доповіді та повідомлення Львівск. Держ. ун-ту, 1952, вып. 3, ч. 2, стр. 14—15. На укр. яз.

Лобанов Н. В. Внесение микоризной земли под посевы дуба в степи. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, вып. 2, стр. 129—136.

Лобанов Н. В. Микотрофность главнейших древесных и кустарниковых пород в условиях Европейской части СССР. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, вып. 2, стр. 24—38.

Макарова А. В. Развитие клубеньковых бактерий красного клевера. Труды Томского ун-та, 1952, т. 122, стр. 129—134.

Марго А. А. и Коробова Г. Я. Исследование местных штаммов азотобактера из почв Горецкого района Могилевской области БССР. Труды Белорус. с.-х. акад., 1952, т. 18, стр. 101—112.

Мишустин Е. Н. Микробиологический фактор и оструктуривание почвы. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве, 1952, стр. 148—155.

Огнев И. Применение нитрагина — залог повышения урожая бобовых культур. Сов. агрономия, 1953, № 2, стр. 47—51.

Островский Я. Н. Фосфоробактерин — эффективное средство повышения урожайности. Достижения науки и передового опыта в сельском хозяйстве, 1953, № 2, стр. 27—28.

Пискарева Л. Т. Эффективность фосфоробактерина на слабо выщелоченных черноземах. Достижения науки и передового опыта в сельском хозяйстве, 1953, № 1, стр. 41—43.

Потебня Н. А. Образование микориз на корнях однолетних сеянцев дуба в лесостепи и степи Украинской ССР. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, стр. 208—212.

Разумовская З. Г., Исакова Н. П. и Петрова Т. Н. Наблюдения за развитием клубеньков у клевера. Вестник Ленинградского ун-та, 1952, № 4, стр. 122—127.

Рахно П. Х. Повышение урожаев донника и люцерны при помощи различных культур и штаммов Rhizobium meliloti. Известия АН Эстон. ССР, 1952, т. 1, № 3, стр. 35—48. На эстон. яз. Резюме на русск. яз.

Рунов Е. В. Образование микоризы у дуба в сухой степи. Сообщения Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, вып. 1, стр. 58—71.

Рященко З. М. Влияние спутников азотобактера на его азотофиксирующую деятельность. Учен. записки Сарат. ун-та, 1952, т. 35, стр. 95—103.

Самцевич С. А. Микоризы дуба и их применение при степном лесоразведении в Украинской ССР. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, вып. 2, стр. 180—199.

Сироко И. А. К методике выделения микробов-антагонистов из почвы. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1953, № 2, стр. 66—68.

Ситникова И. А. О формировании микориз на корнях древесных пород в течение вегетационного периода в Приморском крае. Сообщ. Дальневост. филиала им. Комарова АН СССР, 1952, вып. 5, стр. 57—58.

Теплякова З. Ф. Аэробные целлюлозоразрушающие микроорганизмы почв Казахстана. Труды Ин-та почвоведения АН КазССР, 1952, т. 1, стр. 32—81. Резюме на казах. яз.

Теппер Е. З. Продукты жизнедеятельности микроорганизмов как источники гумусовых веществ. Рефераты докладов Моск. с.-х. акад., 1952, вып. 16, стр. 242—248.

Федоров М. В. Ингибиторы процессов синтеза и фиксация молекулярного азота азотобактером. Доклады АН СССР, 1953, т. 89, № 2, стр. 351—354.

Холодный Н. Г. Газы почвы и их биологическое значение. Природа, 1953, № 3, стр. 37—47.

Худяков Я. П. О физиологии миктрофизма древесных пород. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, вып. 2, стр. 47—53.

Частухин В. Я. Интродукция микоризных грибов в лесные полосы Воронежской области. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, вып. 2, стр. 136—146.

Частухин В. Я. Микрофлора дубрав и лесных полос Воронежской области. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, вып. 2, стр. 54—67.

Шемаханова Н. М. Хранение и дозировка микоризной земли, вносимой в почву при посеве дуба. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, вып. 2, стр. 147—151.

Юнусов М. Бактериальные удобрения люцерны. Научные работы студентов ВУЗ'ов УзбССР, 1952, стр. 34—39.

Якушевский Я. Н. Применение фосфоробактерина под коноплю на торфяно-болотных почвах. Достижения науки и передового опыта в сельском хозяйстве, 1953, № 2, стр. 28—30.

б) Бактериальные, вирусные и грибные заболевания растений

Абдуллаев С. Г. и Ибрагимов Г. Р. Основные болезни яблони и груши в Азербайджане и борьба с ними. Соц. сел. хоз-во Азербайджана, 1952, № 8, стр. 22—25.

Азбукина З. М. О поражаемости ржавчиной дикорастущих злаков в Приморском крае. Сообщ. Дальневост. филиала им. Комарова АН СССР, 1952, вып. 5, стр. 17—21.

Аскарова С. Актиномицеты-антагонисты к Pseudomonas malvacearum и использование их в борьбе с гоммозом хлопчатника. Автореферат дисс. представл. на соиск. уч. ст. канд-та биол. наук. Ташкент, 1952, 7 стр. (Ин-т микробиологии АН СССР).

Бейлин И. Г. Склеротиния желудей и мероприятия по ликвидации ее очагов. Сообщения Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1952, т. 2, вып. 2, стр. 135—142.

Белосельская З. Г. и Сильвестрова А. Д. Вредители и болезни цветочных и оранжерейных растений. М.— Л., Сельхозгиз, 1953, 208 стр. с илл.

Берианидзе М. Заболевание плодовых в Мухранском учебно-опытном хозяйстве за вегетационный период 1951 г. Науч. труды студентов Грузинского с.-х. ин-та, 1952, т. 4, стр. 109—115. На груз. яз. Резюме на русск. яз.

Билай В. И. Влияние разных видов фузариум на хлебные злаки. Мікробіологічний журнал, 1952, т. 14, № 4, стр. 58—69. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Боякова А. С. Новый способ борьбы с твердой головней. Селекция и семеноводство, 1953, № 2, стр. 48.

Бугай С. М. О мероприятиях по борьбе с верхушечным хлорозом махорки. Наукові записки Київського Держ. ун-та, 1952, т. 11, вып. 10, стр. 133—142.

Власов А. А. Мучнистая роса у бересклета европейского. Лесное хозяйство, 1952, № 12, стр. 81.

Гвритишвили С. П. Наблюдения над ржавчинными болезнями хлебных злаков в Восточной Грузии. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1952, т. 8, стр. 3—18. Текст на груз. яз. Резюме на русск. яз.

Гешеле Э. Э. Головня хлебных злаков и меры борьбы с ней. Омск. Омгиз, 1952, 44 стр. с илл.

Гешеле Э. Э. Фузариозно-гельминтоспориозная корневая гниль яровой пшеницы. Селекция и семеноводство, 1952, № 12, стр. 51—56.

Головин П. Н. Новый вид Uncinula на клене с Дальнего Востока. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова АН СССР, 1952, т. 8, стр. 91—94.

Гольдин М. И. Мозаика у подорожника. Доклады АН СССР, 1953, т. 88, № 5, стр. 933—935.

Дорожкин Н. А. Основные мероприятия по борьбе с болезнями картофеля. Сборник науч. трудов Ин-та биологии АН Белорус. ССР, 1952, вып. 3, стр. 30—38.

Естифеев П. Г. Головня хлебных злаков Херсонской области УССР. Науч. записки Херсонск. с.-х. ин-та, 1952, вып. 4, стр. 145—47.

Зерова М. Я. Грибные болезни желтой акации и ильмовых в Украинской ССР, вызываемые видами Mycosphaerella. Ботанічний журнал, 1952, т. 9, № 3, стр. 55—65. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Израильский В. П. и Яшнова Н. В. Бактериальный рак томатов и меры борьбы с ним. М., 1952. 20 стр. с илл.

Исмайлов Х. А. Влияние внешних условий на развитие курчавости листьев и устойчивость сортов персика к болезни. Доклады АН Азерб. ССР, 1953, т. 9, № 2, стр. 85—89. Резюме на азерб. яз.

Канчавели Л. А. и Цакадзе Т. Д. К вопросу о возбудителе серой гнили яблони — Stromatinia mali Takahashi. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1952, т. 8, стр. 221—229. Текст на груз. яз. Резюме на русск. яз.

Катаев И. А. Особенности развития некоторых ржавчинных грибов, паразитирующих на злаках в Туркменистане. Известия АН Туркм. ССР, 1952, № 6, стр. 28—35.

Кварцхава П. А. Главнейшие болезни цитрусовых саженцев и меры борьбы с ними. Бюлл. Всесоюз. науч.-исслед. ин-та чая и субтроп. культур, 1952, № 3, стр. 100—114.

Киселева Е. Н. и Бобкова Е. В. Новые препараты в борьбе с вредителями и болезнями сельскохозяйственных культур. Горький, 1953, 16 стр.

Клюшник П. И. Главнейшие грибные болезни древесных и кустарниковых пород в полезащитных полосах и питомниках. Труды по агролесомелиорации, 1952, стр. 187—208.

Комирная О. Н. История развития Cercospora depressa (Bark. et Br.) Vassil. на фенхеле. Учен. записки Сарат. ун-та, 1952, т. 35, стр. 129—139.

Кублановская Г. Биологический метод борьбы с увяданием хлопчатника. Хлопководство, 1953, № 2, стр. 41—47.

Кублицкая М. А. Фузариоз виноградной лозы. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве, 1952, стр. 156—167.

Купорицкая К. И. Некроз сосудов древесины виноградных саженцев. Виноделие и виноградарство СССР, 1953, № 2, стр. 48—51.

Лабахуа Л. В. Выживаемость возбудителя бактериального некроза цитрусовых. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1952, т. 8, стр. 270—272. Текст на груз. яз. Резюме на русск. яз.

Лавітська З. Г. Нова хвороба echeverii (Echeveria secunda Lindl) у квітництвах м. Киева. Наукові записки Київського Держ. ун-та, 1952, т. 11, вып. 10, стр. 143—148.

Лозовой Д. И. и Шишкина А. К. Повреждение древесных растений насекомыми

и грибами в связи с солнечными ожогами в условиях Тбилиси. Сообщ. АН ГрузССР, 1952, № 9, стр. 533—537.

Мацулевич В. П. Этиология верхушечного хлороза махорки. Мікробіологічний журнал, 1953, т. 15, вып. 1, стр. 33—42.

Мхитарян М. А. Болезни полезащитных лесных насаждений Армянской ССР. Известия АН Арм. ССР, Биол. и с.-х. науки, 1952, № 8, стр. 55—69. Резюме на арм. яз.

Мхитарян М. А. Об изменчивости видов ржавчины хлебных злаков. Известия АН Арм.ССР, 1952, т. 5, № 12, стр. 13—29.

Наумов Н. А. Болезни сельскохозяйственных растений. Изд. 2-е, доп. М.— Л., 1952, 664 стр. с илл.

Немлиенко Ф. Е. и Кулик Т. А. Особенности патогенеза нигроспороза початков кукурузы. Доповіді АН УРСР, 1953, № 1, стр. 37—40. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Пайкин Д. М. Микробы против вредных насекомых. Наука и жизнь, 1952, № 9, стр. 31.

Парфилова М. Е. Ржавчина пихты в лесах Карпат. Лесное хозяйство, 1952, № 12, стр. 74—85.

Полищук Л. К. и Богомаз Е. И. Некоторые физиологические особенности коксагыза при поражении Puccinia taraxaci (Rebent) Plowr. Науч. записки Киевск. гос. ун-та, 1952, т. 11, вып. 5, стр. 95—104.

Попов В. И. О зараженности семян яровой пшеницы грибами, влияющими на всхожесть. Сов. агрономия, 1953, № 2, стр. 88—89.

Потлайчук В. И. Вредная микофлора желудей и ее развитие в зависимости от условий произрастания и хранения. Ботан. журнал, 1953, т. 38, № 1, стр. 135—142.

Присяжнюк А. А. Грибные заболевания желудей дуба и меры борьбы с ними. Известия АН Белорус. ССР, 1952, № 5, стр. 95—110.

Присяжнюк А. А. О поражаемости сортов яровой пшеницы пыльной головней в условиях лесных полезащитных насаждений. Сбор. науч. трудов Ин-та биологии АН Белорус. ССР, 1952, вып. 3, стр. 78—82.

Проценко Е. П. Септориоз листьев подсолнечника. Бюлл. Глав. ботан. сада, 1952, вып. 14, стр. 72—74.

Радзиевский Г Г. Грибные болезни древесных и кустарниковых пород лесонасаждений Измайловской области. Ботанічний журнал, 1952, т. 9, № 3, стр. 66—71.

Рыжков В. Л. и Марченко Н. К. Влияние ингибиторов нуклеинового обмена на размножение вируса мозаичной болезни табака (ВТМ). Доклады АН СССР, 1952, т. 86, № 3, стр. 637—639.

Смирнов Н. М. Борьба с болезнями и вредителями сада. М., 1953, 64 стр. с илл.

Солунская Н. И. Прогноз развития церкоспороза сахарной свеклы, Мікробіологічний журнал, 1952, т. 14, вып. 4, стр. 70—80.

Софян Л. А. Болезни сеянцев лесных пород в питомниках северных районов Армении и меры борьбы с главнейшими из них. Известия АН Арм. ССР, Биол. и с.-х. 1953, т. 8, № 1, стр. 27 —42. Резюме на арм. яз.

Степанов К. М. и Шумакова А. А. О периодах заражения лимона инфекционным усыханием («мальсекко»). Доклады Всесоюз. акад. с.-х. наук им. Ленина, 1952, вып. 11, стр. 34—38.

Сулакадзе Т. С. и Васильевская Л. М. Материалы к разграничению морозных и гуммозных повреждений у лимона. Труды Тбилис. ботан. ин-та, 1952, т. 14, стр. 173—185. Резюме на груз. яз.

Сухов К. С., Соловьев Б. М. и Никифорова Г. С. О действии формальдегидного производного норсульфазола на вирус табачной мозаики. Доклады АН СССР, 1953, т. 88, № 3, стр. 559—560.

Таратунина О. Корневая гниль хлопчатника в свете последних исследований. Хлопководство, 1953, № 1, стр. 43—49.

Хазарадзе Е. П К изучению болезней субтропической хурмы в Грузинской ССР. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1952, т. 8, стр. 163—181. Текст на груз. яз. Резюме на русск. яз.

Хазарадзе Е. П. Материалы по изучению серой плесени лука в условиях Грузии. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1952, т. 8, стр. 97—109. Текст на груз. яз. Резюме на русск. яз.

Хазарадзе Е. П. и Цакадзе Т. А. Раковые заболевания штамба и ветвей некоторых плодовых деревьев. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1952, т. 8, стр. 215—220. Текст на груз. яз. Резюме на русск. яз.

Цакадзе Т. А. К изучению биологии представителей рода Leucostoma на косточковых в Грузинской ССР. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1952, т. 8, стр. 193—213. Текст на груз. яз. Резюме на русск. яз.

Церцвадзе Ш. Влияние климатических факторов на проявление хлороза виноградной лозы. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1952, т. 8, стр. 225—260. Текст на груз. яз. Резюме на русск. яз.

Челядинова А И. и Наумова А. Н. Заболевание поручейника при нарушении симбиоза с корневой микрофлорой. Доклады Всесоюз. акад. с.-х. наук им. Ленина. 1952, вып. 11, стр. 29—33.

Черемисинов Н. А. Новый вид сферопсидального гриба на кок-сагызе. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова АН СССР, 1952. т. 8, стр. 163—167.

Шварцман С. Р. О новом заболевании пихты, вызванном Phoma abietella sibirica Schwarzman sp. nova. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова АН СССР, 1952, т. 8, стр. 167—172.

Шишкина А. К. Трехеомикозные заболевания древесных пород. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1952, т. 8, стр. 231—239. Текст на груз. яз. Резюме на русск яз.

Шнейдер Ю. И. Причины периодичности в развитии бактериального некроза цитрусовых в природе. Труды Всесоюз. ин-та защиты растений, 1952, вып. 4, стр. 77—82.

Шошиашвили И. И., Исарлишвили С. Я. и Кирмелашвили Н. С. К вопросу об этиологии увядания картофеля. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1952, т. 8, стр. 87—95. Текст на груз. яз. Резюме на русск. яз.

Шумиленко Е. П. Эффективность препарата НИУИФ-2 (гранозана) в борьбе с болезнями семян зерновых культур. Селекция и семеноводство, 1952, № 10, стр. 68—70.

Эристави Е. М., Сакварелидзе Н. А. и Титвинидзе С. С. Столбур томатов в Грузии. Труды Ин-та защиты растений АН Груз. ССР, 1952, т. 8, стр. 111—141. Текст на груз. яз. Резюме на русск. яз.

Ягодкина В. П. Опыт химической борьбы со склеротинией подсолнечника. Достижения науки и передового опыта в сельском хозяйстве, 1953, № 2, стр. 74—76.

в) Микробиология кормов

Басс Х. Ф. К вопросу об использовании некоторых мельничных отходов для производства белковых дрожжей. Вопросы питания (Рига), 1952, т. 1, стр. 131—134.

III. Пищевая и техническая микробиология

Демуров М. Г. Молоко и молочные продукты. М., 1952, 360 стр. с илл.

Забродский А. Г. и Мовчан А. А. О влиянии адсорбентов на спиртовое брожение. Биохимия, 1952, т. 17, вып. 5, стр. 513—520.

Зеленина И. Н. Влияние концентрации спирта на деятельность дрожжей. Виноделие и виноградарство СССР, 1952, № 12, стр. 18—21.

Казаков А. М. Микробиология мяса. Изд. 3-е, перераб., С., 1952, 208 стр.

Квасников Е. Н. Основные особенности микробиологических процессов виноделия Средней Азии и пути управления ими. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве, 1952, стр. 82—94.

Куликов А. Н. Микрофлора зернистой икры осетровых и ее изменения при пастеризации. Труды Всесоюз. науч.-исслед. ин-та морского рыбного хозяйства и океанографии, 1952, т. 23, стр. 29—37.

Молоко и молочные продукты. Методы испытания. М., 1952. 76 стр.

Николаев А. М. и Сорокин В. В. Производство твердых сыров. М., 1952, 231 стр. с илл.

Одинцова Е. Н. Ведущий признак отбора дрожжей для виноделия и их распространение в природе. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве, 1952, стр. 64—81.

Охременко Н. С. Задачи микробиологии в виноделии и виноградарстве и координирование работ в этой области между родственными научно-исследовательскими учреждениями. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве, 1952, стр. 10—15.

Плевако Е. А. и Бакушинская О. А. Микробиологический и химико-технологический контроль дрожжевого производства. М., 1952. 144 стр. с илл.

Прескот С. и Дэн С. Техническая микробиология. Пер. с англ. М. Г. Бражниковой. Под ред. и с предисл. чл.-кор. АН СССР А. А. Имшенецкого. М., 1952, 724 стр. с илл.

Рогачева А. И. Микробиологический контроль консервного производства. М., 1953, 95 стр.

Саенко Н. Ф. Работа института «Магарач» в области микробиологии со дня его основания. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве, 1950, 1952, стр. 16—29.

Саенко Н. Ф. О направленной изменчивости, как методе получения спиртоустойчивых хересных дрожжей. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве, 1952, стр. 33—49.

Солине В. А. и Оленьева Е. Техно-химический и микробиологический контроль рыбоконсервного производства. М. 1952. 220 стр. с илл.

Френкель Г. М. К вопросу о выращивании фильтрующихся форм Cl. acetobutylicum на питательных средах. Мікробіологічний журнал, 1952, т. 14, стр. 24—28. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Френкель Г. М. Как предохранить ацетоно-бутиловое производство от опасности занесения специфического бактериофага. Мікробіологічний журнал, 1953, т. 15, вып. 1, стр. 70—71. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Чернобыльская М. Н., Раев З. А., Малинкин С. Г., Болтунова Е. И. Применение сокращенного графика по разведению чистой культуры Clostridium acetobutylicum на ацетонобутиловых заводах. Наукові записки Київського Держ. ун-та, 1952, т. 11, вып. 10, стр. 149—154.

Черноусова Е. М. Применение грибкового препарата для приготовления пива из несоложенного сырья. Сборник студенческих научн. работ Белорус. политехн. ин-та им. Сталина, 1952, вып. 1, стр. 85—87.

Шершицкая К. В., Рыжова А. Г. Из опыта работы Саратовского дрожжевого завода. Гидролизная промышленность СССР, 1952, № 6, стр. 16—17.

IV. Микробиология воды, лечебных грязей, воздуха и горных пород

Глибин В. Ф. Обеззараживание воды токами ультравысокой частоты. Гигиена и санитария, 1952, № 11, стр. 41—42.

Зенкевич Л. А. Бактериальная жизнь на больших глубинах. Природа, 1952, № 2, стр. 112—113.

Крисс А. Е. Микробиальная жизнь в океанских глубинах. Успехи совр. биологии, 1952, т. 34, вып. 2, стр. 194—218.

Крисс А. Е. и Рукина Е. А. Микроорганизмы в донных отложениях океанических областей. Известия АН СССР. Сер. биол., 1952, № 6, стр. 67—79.

Кузнецов С. И. Роль микроорганизмов в круговороте веществ в озерах. М., 1952. 300 стр. с илл. (АН СССР. Ин-т микробиологии).

Мосевич Н. А., Гусева Н. В., Драгулин М. Г. и Кушнарева В. С. Сточные воды нефтеперерабатывающих заводов, их влияние на водные организмы и нормирование их сброса. Известия Всесоюз. науч.-исслед. ин-та озерного и речного рыбного хозяйства, 1952, т. 31, стр. 41—81.

Мосевич Н. А., Драгулина М. Г., Кушнарева В. С. и Мосевич М. В. Сточные воды сернокислотных заводов, их влияние на водные организмы и нормирование их сброса. Известия Всесоюз. науч.-исслед. ин-та озерного и речного рыбного хозяйства, 1952, т 31, стр. 211—226.

Ярославцев И. Н. Биологические факторы выветривания в высокогорьях. Природа, 1952, № 12, стр. 106—113.

ХРОНИКА

ПОСТАНОВЛЕНИЕ ПРЕЗИДИУМА АКАДЕМИИ НАУК СОЮЗА ССР
от 12 июня 1953 г. № 301 г. Москва

О результатах конференции по итогам и перспективам работ по изучению неклеточных форм живого вещества

С 5 по 7 мая 1953 г. в Отделении биологических наук АН СССР проходила конференция по итогам и перспективам работ по изучению неклеточных форм живого вещества, в работе которой приняли участие около 500 человек, в том числе 60 человек иногородних.

Заслушав и обсудив доклад академика А. И. Опарина о результатах конференции, Президиум АН СССР отмечает, что конференция продемонстрировала расширение фронта работ по проблеме неклеточных форм жизни в институтах Отделения биологических наук АН СССР, в Академии медицинских наук СССР и в других научных учреждениях. Фактический материал и научные обобщения, подвергшиеся обсуждению на конференции, представляют существенный научный интерес, развивая материалистическую клеточную теорию и обогащая ее фактическую основу. Вместе с тем, конференция выявила некоторые недочеты в разработке проблемы изучения неклеточных форм живого вещества, выражающиеся в недостаточной критической оценке вновь получаемых результатов и увлечении теоретическими схемами, иногда не подкрепляемыми фактическими доказательствами.

Президиум Академии наук СССР постановляет:

1. Утвердить резолюцию конференции по итогам и перспективам работ по изучению неклеточных форм живого вещества (приложение).

2. Считать целесообразным опубликовать в биологических журналах АН СССР обзоры докладов и резолюцию конференции по итогам и перспективам работ по изучению неклеточных форм живого вещества.

3. Разрешить Отделению биологических наук провести осенью 1954 г. третью конференцию по проблеме живого вещества.

Президент Академии наук СССР академик — **А. Н. Несмеянов**
Главный ученый секретарь
Президиума Академии наук СССР академик — **А. В. Топчиев**

Приложение к постановлению Президиума
Академии наук СССР от 12 июня 1953 года, № 301

Резолюция

конференции по итогам и перспективам работ по изучению неклеточных форм живого вещества

Совещание Отделения биологических наук АН СССР в 1950 г. по проблеме неклеточных форм жизни явилось знаменательной датой в развитии этого прогрессивного учения и в борьбе с пережитками вирховианства и другими реакционными теориями в биологии.

На конференции АМН СССР и Отделения биологических наук АН СССР с участием учебных заведений и научно-исследовательских учреждений Министерства здравоохранения СССР по проблеме развития клеточных и неклеточных форм живого вещества, организованной в 1952 г., были подведены первые итоги по изучению развития живого вещества.

Метафизические вирховианские представления о том, что единственным носителем жизни является дифференцированная клетка, широко распространенные в капиталистических странах, в прошлом находили себе сторонников и среди советских биологов. Проникновение этих представлений в микробиологию и вирусологию выразилось, с одной стороны, в необоснованных попытках приписывать всем без исключения микробным клеткам признаки высокодифференцированных клеток (оформленное ядро, хромосомный аппарат, связываемый с наличием мифических «генов», редукционное деление), с другой стороны, в отказе признавать живыми все те простейшие существа, которые в силу их примитивной, доклеточной организации не удавалось приравнять к оформленным клеткам.

В противоположность этому материалистическая теория развития признает существование различных ступеней усложнения живой природы, начиная от неоформленного в клетку живого (наделенного обменом) белкового вещества до высших животных и растений. В развитии организмов существенную роль играет неклеточное живое вещество. Материалистическая теория не абсолютизирует понятие клетки, видя в ней исторически развивающуюся категорию. Несомненно, что существуют и примитивные организмы, стоящие на грани между доклеточными и клеточными формами жизни, и дифференцированные, но не имеющие еще структурно-оформленного ядра бактериальные клетки, и обладающие ядром клетки миксобактерий, и еще более развитые клетки грибов, водорослей и протистов, и сложные высокодифференцированные клетки инфузорий и других простейших.

Настоящая конференция, проведенная Отделением биологических наук АН СССР совместно с АМН СССР при участии советских биологов различных специальностей, явилась новой ступенью в развитии передовой советской науки в области изучения неклеточных форм жизни.

На конференции были заслушаны доклады О. Б. Лепешинской, В. Г. Крюкова, Г. К. Хрущова, А. Н. Студитского, Ф. И. Халецкой, А. А. Имшенецкого, И. Н. Майского, В. Д. Тимакова, В. Л. Рыжкова, Н. М. Сисакяна, А. Л. Курсанова, В. Н. Ореховича, а также многочисленные выступления в прениях, на которых в порядке живой дискуссии были обсуждены актуальные вопросы в области изучения неклеточных форм жизни.

Конференция отмечает дальнейшие успехи исследований в этой области, проводимых в Академии наук СССР, Академии медицинских наук СССР и в ряде других научных учреждений.

Конференция подчеркивает существование внутренней связи между учениями Павлова, Мичурина и открытиями проф. О. Б. Лепешинской.

Полученные первые результаты по новообразованию яйцевых клеток в регенерирующих яичниках млекопитающих является экспериментальным доказательством ложности вейсманистских представлений о непрерывности так называемого «зародышевого пути» и открывают возможности анализа тонких процессов, лежащих в основе явлений наследования приобретаемых свойств.

В работах, посвященных изучению роли неклеточного живого вещества в процессах восстановления мышечной ткани, открыты новые факты о путях развития ядер мышечных волокон, позволяющие расширить наши представления о новообразовании клеточных структур.

Дальнейшее подтверждение получили явления новообразования опухолевых клеток и тканей из неклеточного материала.

Накопившиеся в микробиологии и вирусологии фактические данные с несомненностью подтверждают существование разнообразных форм жизни, различающихся уровнем своей организации. Показана возможность возникновения микробных клеток из неклеточного живого вещества и изучено развитие неклеточных форм в клетки.

Развитие представлений О. Б. Лепешинской о роли неклеточного живого вещества в организме развило новые перспективы в познании закономерностей биологического обмена веществ. Плодотворными оказались исследования биохимических явлений в процессе развития, включающие как реакции разрушения, так и новообразования.

Совещание отмечает, что для познания закономерностей развития живого белкового вещества определенный интерес представляют работы по изучению основных процессов обмена веществ, в частности полостной жидкости тутового шелкопряда в процессе его метаморфоза. В результате этих исследований был осуществлен биосинтез белка без участия клеточных структур, была показана сопряженность этого процесса с энергетическими реакциями обмена веществ, а также установлено, что лишенная клеточных структур полостная жидкость обладает функциями слаженного дыхания и другими важными чертами обмена веществ.

В результате изучения химизма процессов с помощью метода меченых атомов и других методов получены данные о возможности синтеза различных активных белков, в том числе ферментов в веществе с разрушенной клеточной структурой.

Однако в фактическом материале в области разработки проблем живого вещества осталось много невыясненного и нуждающегося в дальнейшей экспериментальной разработке. Так, например, хотя и не вызывает сомнения, что бактериальная клетка может образоваться из неклеточных (так называемых «фильтрующихся») форм, однако до сих пор нет полного понимания биологического значения этих форм: относятся ли они к стадиям нормального онтогенетического развития бактерий или же являются частицами, способными к регенерации в клетку. До сих пор также нет должной ясности в вопросе о связи между фильтрующимися формами бактерий и патогенными вирусами и бактериофагами. Остается открытым вопрос об обмене веществ вирусов и фагов и о биологическом способе их воспроизведения. Недостаточно еще глубоко исследована роль неклеточного живого вещества в процессах видообразования и вегетативной гибридизации у микроорганизмов.

Совещание отмечает, что упрощенные представления о природе и условиях самообновления белка, о живой природе отдельных индивидуальных молекул белкового вещества, имеющие хождение в некоторых биохимических кругах, могут оказаться сковывающим фактором в познании объективных закономерностей жизненных явлений.

Совещание также констатирует, что некоторые исследователи, признавая на словах учение о неклеточном живом веществе, на деле понимают развитие клетки метафизически как простое количественное изменение, не ведущее за собой глубокие качественные сдвиги.

Следует подчеркнуть, что материалом для развития новых клеток не являются любые продукты разрушения клетки, а лишь те, которые содержат способный к обмену белок,— неклеточное живое вещество.

Нельзя считать правильным, что в борьбе за утверждение материалистической идеи развития тщательные и безукоризненные экспериментальные доказательства в некоторых случаях подменялись недостаточно обоснованными гипотетическими построениями и декларативными утверждениями.

Совещание считает, что одной из важнейших задач советских биологов является дальнейшая разработка материалистической теории развития клеток из живого вещества.

Для этого необходимо всестороннее изучение различных форм жизни, различных типов организации живого вещества с использованием более совершенных методов исследования, в том числе кристаллографических, электронно-микроскопических, изотопных, и использование разнообразных точных цитологических и гистологических исследований, прижизненные наблюдения и др.

По разделу гистологии и эмбриологии совещание отмечает совершенно недостаточное комплексирование цитологических и гистологических работ с соответствующими биохимическими, физиологическими и экспериментально-генетическими исследованиями. Совещание считает необходимым быстрейшую ликвидацию этого недостатка и рекомендует составление комплексных планов для разработки конкретных вопросов новообразования клеток и тканей из неклеточного живого вещества.

Совещание, констатируя успехи в указанных направлениях, рекомендует дальнейшее расширение работ по исследованию процессов новообразования клеток и отдельных клеточных структур из неклеточного вещества во взрослом и развивающемся организме как в норме, так и в патологии.

По разделу микробиологии и вирусологии особенно актуальны следующие вопросы: дальнейшее всестороннее изучение условий, морфологической картины и биохимического способа воспроизводства вирусов и фагов в теле организма — хозяина, а также их изменчивости; выяснение природы кристаллических вирусов и фагов.

Совещание считает также необходимым: более широкое и внимательное изучение групп ультрамикробов, особенно свободно живущих; выяснение биологического значения неклеточных форм бактерий; электронно-микроскопическое изучение фильтрующихся форм и выяснение физиологических условий их развития в микробную клетку; выяснение роли неклеточных форм жизни в процессах изменчивости и видообразования у микроорганизмов; изучение связи патогенных и фитопатогенных вирусов с сопутствующими им микробами; выяснение возможности самозарождения неклеточного живого вещества из неживой материи в современный период в естественной природной обстановке.

По разделу биохимии совещание призывает расширить исследования по обмену веществ неклеточных форм живого вещества и координацию этих работ с исследованиями смежных областей знания, в особенности с физиологами и гистологами.

В качестве первоочередной задачи совещание выдвигает проблему изучения закономерностей обмена веществ неклеточных форм жизни, в особенности изучения закономерностей становления белков и превращения их в сложные биохимические системы, наделенные функциями самообновления, слаженного закономерного обмена веществ, изучение возрастных изменений живого вещества в организме и вопрос о прерывности обмена веществ.

Академик-секретарь Отделения биологических наук
Академии наук СССР
академик — **А. И. Опарин**

КОНФЕРЕНЦИЯ ПО ПРОБЛЕМЕ «НЕКЛЕТОЧНЫЕ ФОРМЫ ЖИЗНИ»

С 5 по 7 мая 1953 г. Отделением биологических наук АН СССР совместно с Академией медицинских наук была проведена конференция по итогам и перспективам работ по изучению неклеточных форм живого вещества. Эта конференция явилась третьей конференцией, посвященной проблеме неклеточных форм жизни. В ее работе приняло участие около пятисот человек биологов и медиков различных специальностей.

Открывая собрание, академик А. И. Опарин отметил, что исследования О. Б. Лепешинской о роли неклеточных форм живого вещества послужили стимулом для широкого развертывания у нас в стране работ по изучению роли и значения живого вещества в микробиологии, биохимии, цитологии, гистологии и других разделах биологии и медицины.

А. И. Опарин подчеркнул, что проведенные исследования со всей убедительностью показали как существование разнообразных форм жизни, различающихся уровнем своей организации, так и возможность развития клеток из живого вещества.

Фактические данные, полученные вирусологами и микробиологами, показали воз-

можность образования клеток из неклеточных форм живого вещества и роль живого вещества в изменчивости и видообразовании у микроорганизмов.

Однако, несмотря на большие достижения в разработке проблемы живого вещества, далеко не все работы в этой области находятся на достаточном научном и методологическом уровне и еще до сих пор нет комплексности между гистологическими и цитологическими работами, с одной стороны, и биохимическими и физиологическими — с другой.

В заключение Опарин призвал участников совещания критически рассмотреть выполненные за последние годы работы в области изучения роли и значения живого вещества, и наметить основные задачи по этой проблеме на ближайшее время.

Первым был заслушан доклад О. Б. Лепешинской на тему «Теория развития живого вещества, ее достижения и перспективы».

В своем докладе О. Б. Лепешинская отметила увеличение числа новых исследований, основанных на выдвинутой ею клеточной теории, и подчеркнула, что дальнейшая разработка новой клеточной теории сталкивается с необходимостью комплексного подхода к разрешению различных связанных с ней проблем.

В возглавляемом ею Отделе развития живого вещества успешно проводятся работы по исследованию химических, физических, морфологических и биологических свойств живого вещества в процессе его развития у высших организмов и у бактерий. Исследуется развитие половых и нервных клеток из неклеточного живого вещества, изучается роль неклеточного вещества в процессе образования зародышевых листков.

Продолжают исследоваться возрастные изменения в живом веществе и влияние среды на эти изменения. Исследуется биологический переход от кристалла к клетке и роль кальция в этом процессе.

В заключение О. Б. Лепешинская подчеркнула, что изучение живого вещества на основе диалектико-материалистической теории поможет понять многие вопросы медицины, биологии и агробиологии и тем внести вклад ученых в дело построения коммунизма.

Следующие доклады по своей тематике могут быть разбиты на три группы: гистолого-эмбриологические, биохимические и микробиологические.

Гистолого-эмбриологические доклады были посвящены изучению роли неклеточного живого вещества в процессах восстановления мышечной ткани (Студитский); образования яйцеклеток из бесструктурного вещества ткани яичника (Хрущов и Абуладзе); новообразований опухолевых клеток и тканей из неклеточного материала (Халецкая).

Наличие на данной конференции докладов по биохимической тематике представляет весьма положительное явление, указывающее на расширение фронта биологических исследований в области изучения неклеточных форм жизни.

Доклады по биохимической тематике касались исследований биохимических явлений в процессе развития живого вещества и его пластических и консервативных свойств (Крюков). Большой интерес представили работы по изучению процесса обмена веществ в полостной жидкости тутового шелкопряда (Сисакян и Куваева, Курсанов и Выскребенцова). Этими исследованиями была показана возможность биосинтеза белка без участия клеточных структур и сопряженность этого процесса с энергетическими реакциями обмена веществ.

В результате изучения химизма процессов при помощи метода меченых атомов и других методов исследования получены данные, говорящие о возможности синтеза различных белков и ферментов в веществе с разрушенной клеточной структурой (Ореховичч).

Для нас в настоящем сообщении наибольший интерес представляют доклады на микробиологические темы, на которых мы остановимся несколько подробнее.

С докладом на тему «Фильтрующиеся формы бактерий» выступил Имшенецкий. Докладчик отметил, что существование фильтрующихся форм бактерий не вызывает в настоящее время сомнений. Однако получение их не носит еще закономерного характера и воспроизвести положительные результаты опытов не всегда удается. В связи с этим возникает необходимость критического анализа методик, примененных для получения фильтрующихся форм. Говоря о сущности фильтрующихся форм, докладчик пришел к выводу, что возможность получения фильтрующихся форм под действием абиологических факторов ставит под сомнение толкование этих форм как стадий развития бактерий. До сих пор нет достаточно достоверных данных по этому вопросу. Точно так же не доказана трансформация бактерий в вирусы и обратно. В заключение докладчик призвал присутствующих критически проанализировать существующие методы получения фильтрующихся форм с тем, чтобы придти к определенному выводу об их природе.

Доклад Жукова-Вережникова, Майского и Калиниченко был посвящен вопросу «О виде и видообразовании в микробиологии». (докладчик Майский).

На основании собственного экспериментального материала докладчики считают, что при видообразовании у бактерий качественные изменения в обмене веществ приводят к появлению новых специфических типов живого вещества. Новая, измененная наследственность бактерий требует других условий жизни. Новый вид вступает в отношения антагонизма и борьбы с исходной формой.

Переходы одного вида в другой под влиянием факторов внешней среды наблю-

даются в эксперименте и в природных условиях. Отсюда с новых позиций должны быть оценены факты изменчивости микробов кишечной группы (дизентерия, брюшной тиф, паратифы А и В, холера) в естественной среде. Все больше накапливается фактов, свидетельствующих о том, что переход из одного вида в другой совершается через стадию живого вещества.

Доклад на тему «Роль живого вещества в развитии микроорганизмов» сделал Тимаков. В свете исследований О. Б. Лепешинской удается вскрыть ряд закономерностей развития и формирования фильтрующихся форм микроорганизмов и понять их природу. Докладчик считает, что изучение морфологических и физиологических свойств фильтрующихся форм микроорганизмов дает основание считать, что эти формы не являются нормальной стадией онтогенеза бактериальной клетки. Они имеют приспособительное значение, так как возникают при неблагоприятных условиях существования. Фильтрующиеся формы микроорганизмов развиваются из живого вещества бактериальной клетки. Фильтрующиеся формы микроорганизмов и фильтрующиеся вирусы имеют различные свойства и различную природу.

Основными задачами по изучению неклеточных форм жизни является изыскание методов выявления этих форм и выяснение их значения в эпидемиологии, в патогенезе инфекции и в формировании иммунитета.

Доклад Рыжкова был посвящен теме: «Кристаллы и жизнь». Отметив, что работы О. Б. Лепешинской вызвали интерес к кристаллическим формам жизни, докладчик сказал, что ни гетерогенность протоплазмы, ни подвижность ее структур не исключает возникновения в ней кристаллической и паракристаллической упорядоченности. Нет основания считать протоплазму единственной формой организации живого вещества. Известны простейшие вирусы, имеющие правильное кристаллическое строение. Сложные вирусы, в формах внешне напоминающих кристаллы, имеют довольно сложную организацию. В вопросе о происхождении жизни следует учитывать роль кристаллических структур как в самом возникновении жизни, так и в организации первичных живых тел.

По заслушанным докладам развернулась широкая дискуссия.

Все выступавшие подчеркивали, что возникновение клеточных структур из неклеточного живого вещества в настоящее время уже не вызывает сомнений. Но у ряда исследователей имеются довольно упрощенные представлениями о том, что такое живое вещество, приводящие к ошибочным выводам.

В прениях неоднократно подчеркивалось, что только способный к обмену и развитию белок, а не любые продукты клеточного распада, может служить материалом для новообразования клеток и, следовательно, является живым веществом.

Выступающие отметили также, что в разработке проблемы живого вещества осталось много невыясненного и нуждающегося в дальнейшей экспериментальной разработке.

До сих пор нет полного понимания биологического значения фильтрующихся форм бактерий, нет должной ясности в вопросе о связи между фильтрующимися формами бактерий, патогенными вирусами и бактериофагами.

В прениях также отмечалось недостаточная разработка методов исследования, недостаточная тщательность проверки полученных экспериментальных данных и иногда прямое замалчивание авторами методов исследования, что делает невозможным проверку полученных ими результатов.

В резолюции, принятой на заключительном заседании, отмечается значение данной конференции для развития советской биологической науки и подчеркивается, что конференция внесла новые данные для материалистической теории развития.

В резолюции сформулированы основные задачи, стоящие перед советскими биологами в деле дальнейшего всестороннего развития учения о роли и значении неклеточных форм жизни.

Е. Л. Рубан

СОВЕЩАНИЕ ПО МИКОТРОФНОМУ ПИТАНИЮ ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД

Одним из факторов, способствующим развитию и приживаемости древесных сеянцев и саженцев, является наличие микоризы на корневых системах. В связи с этим большое значение приобретает вопрос микотрофного питания древесных пород, разрабатываемый советскими микробиологами. В целях координации работ в этой области при АН СССР было созвано 29.I—30.I 1953 г. специальное совещание.

Задача совещания заключалась в подведении итогов работ за истекший год, а также в определении основных задач на 1953 г. в области научно-исследовательской работы и практических мероприятий.

Совещание заслушало ряд докладов представителей научно-исследовательских институтов и высших учебных заведений, занимающихся проблемой микотрофного питания растений.

Большинство докладов было посвящено двум вопросам:

1) выяснению значения микоризации и условий образования микориз у дуба;
2) изучению чистых культур грибов-микоризообразователей.

Работы по первому вопросу, проведенные в условиях сухих степей на черноземах Деркульской опытной станции (Рунов), светлокаштановых почв Аршань — Зельмень (Большакова), на почвах трассы Камышин — Сталинград (Силаева) черноземах Каменной степи (Петрова) и в условиях полупустынь на темно-цветных почвах Джаныбека (Большакова), позволили заключить, что внесение микоризной земли увеличивает количество микоризы на корнях древесных сеянцев, улучшает приживаемость сеянцев (Рунов), а также содействует их развитию. Аналогичные данные по сосне привела в своем докладе Мирчинк.

К полному соглашению пришли докладчики также по вопросу об условиях образования микоризы (Самцевич, Силаева, Зерова, Петрова, Большакова, Власов, Частухин). Установлено, что влажность почвы и высокий агротехнический фон способствует микоризообразованию и развитию дубков. Самцевич привел данные, указывающие, что при влажности почвы 20% от полной влагоемкости микориза на корнях дуба не образуется; при 60% — микориза развивается хорошо; влажность 80% — влияет отрицательно и микориза отсутствует. Частухин отметил отсутствие на корнях дуба микоризы при сухих условиях степи Воронежской области. Власов в своем докладе указал, что в засушливые годы на однолетних сеянцах микориза образуется слабее. Влияние влажности сильно сказывается в Каменной степи (Петрова) и в условиях юго-востока (Большакова), где влажный год резко повысил процент микоризных дубков и степень их микоризности. Силаева отметила увеличение процента микоризных сеянцев при поливе, с 10 до 85%. Перечисленные докладчики, за исключением представителей АН Украинской ССР в лице Зерсвой и Самцевич, указывают, что увеличение микоризности сопровождается также лучшим состоянием дубков (по росту, приросту и пр.), Зерова на основании своих опытов, проведенных в полевых и вегетационных условиях, считает, что эффективность микоризации сказывается лишь при влажности почвы, благоприятной для развития дуба (60% от полной влагоемкости). При микоризации в условиях недостаточной влаги разница в развитии микоризных и немикоризных сеянцев полностью стирается и растения развиваются плохо в обоих случаях. На основании своих наблюдений Зерова утверждает, что гибель дубков в степи зависит не от отсутствия микоризы на его корнях, а от недостатка влаги. По мнению Зеровой, решающим фактором в условиях Украины является влажность и соответственные агротехнические мероприятия. Необходимость высокого агротехнического фона подтверждает Гельцер, которая доказывает это положение полевыми опытами с культурами грибов-микоризообразователей.

В ряде докладов приводились данные о влиянии минеральных удобрений на развитие микориз. Самцевич сообщил об отрицательном действии азота на черноземах для степных условий Украины. Большакова — суперфосфата в условиях светлокаштановых и темноцветных почв. Большаковой показано также отрицательное действие суперфосфата на двухлетние дубки. К противоположным выводам приходит Власов. По его данным, внесение суперфосфата увеличивает количество ранних всходов. Следует отметить, что при внесении удобрений необходимо учитывать особенности и состав тех или иных почв.

Силаева указала на большое значение для развития сеянцев дуба глубины заделки желудей, количества высаженных желудей и способа их посадки. По данным Силаевой, лучшее микоризообразование дала рядовая посадка 10 желудей на глубину 8—12 см. Большое значение для успешного микоризообразования докладчик придает также мульчированию почв.

Работой Большаковой уточнена оптимальная доза микоризной земли (50 г на лунку) для светлокаштановых и темноцветных почв.

Многие докладчики касались вопроса возможности образования микориз без добавочного внесения микоризной земли. Подобная микориза образовалась в условиях сухих степей Деркульской области (Рунов) и на почвах трассы Камышин — Сталинград (Силаева). Силаева доказывает, что при достаточной влажности почвы «естественная» микориза образуется так же энергично, как и при внесении микоризной земли.

По вопросу «естественного» образования микориз большинство докладчиков пришло к выводу, что микориза образуется грибами, находящимися в почвах, в противовес Частухину, который объясняет причину образования микориз внесением микоризообразующих грибов вместе с семенами. Касаясь роли микориз для развития дуба, Рунов отметил большую устойчивость микоризных сеянцев к засухе. Гельцер указала на факт большего накопления азота и фосфора микоризными сеянцами дуба.

Не лишены интереса исследования Мирчинк по микоризам сосны, указавшую на факт образования морфологически однотипной микоризы несколькими различными видами грибов. Анатомическое развитие микориз обуславливается условиями культивирования. При молодом возрасте и наличии большого количества гумуса образуется эктоэндотрофная микориза с сетью Гартига, но без внутриклеточного мицелия. В противоположных условиях — экто-эндотрофная с хорошо развитой сетью Гартига и внутриклеточным мицелием.

Следует упомянуть доклад Шварцман по обследованию растительности полупустынь Казахской ССР. Докладчик отмечает широкое распространение явления микотрофности среди трав, кустарников и деревьев (Б. Барсуки).

Ряд докладов был посвящен вопросу возможности использования чистых культур грибов-микоризообразователей.

Возняковская сообщила о методе быстрого и массового размножения чистых культур грибов-микоризообразователей. Метод заключается в выращивании мицелия в жидких средах в возможно мелко раздробленном состоянии, при продувании воздуха. Докладчик отмечает невозможность получения чистых культур микоризных грибов в стерильных субстратах. Это явление Возняковская объясняет отсутствием фермента протопектиназы у микоризообразующих грибов, вследствие чего для внедрения в клеточные стенки тканей корня грибы, по ее мнению, нуждаются в сопутствующих микроорганизмах (протопектиназных бактериях). Проверка чистых культур различных грибов в полевых и вегетационных опытах показала различную степень их влияния на развитие дуба. Последние данные подтверждены Гельцер, Руновым, Зеровой и Власовым. Власов получил в полустерильных вегетационных опытах образование микоризы у дуба при внесении чистых культур грибов. По данным этого докладчика, некоторые грибы оказались эффективнее микоризной земли. Зерова в полустерильных условиях вегетационного опыта установила, что грибами-микоризообразователями для дуба являются Lactarius, Scleroderma и Hebeloma.

По прослушанным докладам развернулся обмен мнений. В своем выступлении Мишустин указал на успехи, достигнутые микробиологами в 1952 г. по выращиванию чистых культур грибов-микоризообразователей. В настоящем году Мишустин считает необходимым проведение широких испытаний чистых культур грибов в лабораторных и полевых условиях. Мишустин отметил, что определенным достижением следует считать установление эффективности микоризации для дуба: у микоризных сеянцев удлинен вегетационый период, более поздний опад листвы, вес микоризных дубков увеличивается на 20%.

Частухин в своем выступлении остановился на ряде имеющих место недочетов. Он считает неправильным проводить испытания чистых культур грибов в полевых условиях без предварительной идентификации их как грибов-микоризообразователей в условиях стерильных культур. Применение грибов без предварительного установления способности их образовывать микоризу в стерильных условиях вегетационного опыта может привести к неправильным выводам. Одним из существенных недостатков Частухин отмечает отсутствие работ по физиологии грибов-микоризообразователей и физиологии микотрофного питания растений. Считая этот участок работы наиболее актуальным и важным, он предлагает для успешного разрешения его привлечение соответствующих специалистов.

Детальному обсуждению подвергся вопрос о необходимости обязательной микоризации. Большинство выступавших по докладам (Письменный, Власов, Худяков, Мишустин, Лобанов, Гельцер, Рунов) установили необходимость обязательной микоризации для каштановых почв и необязательной для черноземов.

В принятой совещанием резолюции указывается, что наиболее важными задачами в области изучения микотрофного питания древесных пород в настоящее время являются следующие: 1) изучение физиологии микоризных грибов и физиологии микотрофного питания древесных пород; 2) испытание агротехнических, биологических и агрохимических приемов для стимулирования микоризообразования; 3) исследования микориз сосны; 4) уточнение видового состава грибов-микоризообразователей различных древесных пород; 5) изыскание эффективных чистых культур грибов-микоризообразователей и простых способов их размножения и применения в производстве.

Большое внимание в резолюции уделено испытанию чистых культур грибов-микоризообразователей в лабораторных и полевых условиях. Постановлено создать специальную комиссию АН СССР, на которую возлагается проверка действия чистых культур грибов-микоризообразователей в опытах, заложенных в 1952 и 1953 гг. На основании материалов докладчиков и обмена мнений совещание внесло ряд изменений в «Инструкцию по обеспечению микоризой посевов дуба и сосны при полезащитном лесоразведении». Существенным изменением инструкции является отмена обязательной микоризации для зоны черноземных почв и снижение дозы микоризной земли до 50 г на лунку для зоны каштановых почв.

Очередное совещание намечено созвать в декабре следующего года.

Н. М. Шемаханова

КОНФЕРЕНЦИЯ ПО ПЛАНИРОВАНИЮ РАБОТ В ОБЛАСТИ ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ В СИСТЕМЕ УЧРЕЖДЕНИЙ АН СССР И АКАДЕМИЙ СОЮЗНЫХ РЕСПУБЛИК

Историческими решениями XIX съезда КПСС перед советской наукой поставлены ответственнейшие задачи. Наша советская наука должна занять первое место в мире. Советским ученым, работающим в области почвенной микробиологии, предстоит большая работа по претворению в жизнь директив XIX съезда. В прогрессивном развитии почвенной микробиологии важное значение приобретает планирование и согласование исследований различных учреждений. Только при этом условии возможно решение в самые короткие сроки наиболее важных вопросов, связанных с получением высоких и устойчивых урожаев сельскохозяйственных культур. В связи с этим Институтом ми-

кробиологии Академии наук СССР была в январе этого года созвана конференция по координации планов исследований в области почвенной и сельскохозяйственной микробиологии в учреждении АН СССР и академии наук союзных республик на 1953 г.

Помимо сотрудников учреждений АН СССР и союзных республик, в совещании участвовали также и представители Института сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ. К сожалению, некоторые учреждения, как Институт микробиологии АН Украинской ССР, Секторы микробиологии АН Казахской, Узбекской и Латвийской ССР, не учли значения совещания и не прислали на него своих представителей.

Конференция продолжалась два дня. На совещании были заслушаны краткие сообщения о результатах работы за 1952 г. и детально обсуждены планы различных учреждений АН на 1953 г.

Планы каждого учреждения рассматривались с точки зрения соответствия их следующим требованиям:

1) предусматривается ли в них разработка наиболее важных для сельского хозяйства данной республики вопросов и 2) запланированы ли работы по дальнейшему более полному внедрению в сельское хозяйство комплекса Докучаева — Костычева — Вильямса и развитию учения Вильямса о роли биологических процессов в почве.

Одновременно совещание обратило большое внимание на необходимость разработки теоретических вопросов, особенно в области почвообразовательных процессов, симбиотрофного питания растений и других, так как в последнее время отмечается определенное отставание в этом направлении.

В целях ускорения разрешения наиболее важных вопросов совещание приняло решение о необходимости одновременной разработки ряда тем несколькими учреждениями АН СССР и академии наук союзных республик. К этим темам относятся следующие: а) роль микробных ассоциаций в формировании почвы и повышении ее плодородия; б) почвенный перегной и пути его образования; в) принципы использования бактериальных удобрений и микробного антагонизма для повышения урожайности сельскохозяйственных культур и г) микотрофное питание древесной растительности.

Весьма серьезно обсуждались методические подходы к разрешению запланированных исследований. Участники совещания высказали пожелание о том, чтобы особое внимание уделялось разработке усовершенствованных методов микробиологических исследований почвы. Для того чтобы получить сопоставимые результаты, особенно в области изучения экологии микроорганизмов, было признано целесообразным применение единых методов анализа микрофлоры почвы. Поэтому участники совещания приняли решение об обязательном согласовании методики почвенно-микробиологических исследований в области экологии микроорганизмов с Институтом микробиологии АН СССР.

Совещанием были одобрены следующие основные направления сводного тематического плана по почвенной и сельскохозяйственной микробиологии в учреждениях системы АН СССР и академий наук союзных республик.

1. Роль микробиологического фактора в генезисе почв и в создании их плодородия. Исследования должны охватить все стадии почвообразовательного процесса.

2. Взаимоотношение низших организмов между собой и высшими растениями. Изучение данного вопроса должно выяснить роль микробиологического фактора в питании растений, возможность оздоровления почвы микробиологическими приемами и т. д.

3. Установление принципов рационального применения микробных препаратов в земледелии. Имеются в виду исследования по усовершенствованию техники применения бактериальных удобрений. Особое внимание должно быть уделено фосфоробактерину, местным и комбинированным бактериальным удобрениям.

4. Изучение рациональных приемов переработки сельскохозяйственных продуктов.

Совещание поручило Институту микробиологии АН СССР увязать составленный сводный план всех академических учреждений с планом Института сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ. На совещании выявилась необходимость организации дискуссий по важнейшим вопросам почвенной микробиологии. Институту микробиологии АН СССР поручено организовать в ближайшее время ряд таких дискуссий, в первую очередь по вопросу о роли микроорганизмов в корневом питании растений и по методам почвенно-микробиологических исследований.

О. И. Пушкинская

НИКОЛАЙ ГРИГОРЬЕВИЧ ХОЛОДНЫЙ

4 мая 1953 г. скончался в Киеве Николай Григорьевич Холодный. Он был широко известен среди биологов Советского Союза как выдающийся физиолог растений и микробиолог. В его лице советская наука потеряла талантливого экспериментатора, изумительно наблюдательного натуралиста, взор которого проникал в сущность явлений, оставшихся недоступными для многих других исследователей. Умение читать «книгу природы» было столь развито у покойного Н. Г. Холодного, что многие открытия, сделанные им, представляли большой общебиологический интерес и привлекали внимание орнитологов, ботаников, микробиологов, энтомологов, почвоведов и представителей других специальностей. Эта многогранность творчества, широта интересов, оригинальность как в постановке, так и в решении научных проблем обращали на себя внимание. Не случайно В. И. Вернадский охарактеризовал Н. Г. Холодного как «одного из крупнейших наших биологов».

Н. Г. Холодный родился 12 июня 1882 г. в г. Тамбове в семье учителя местной мужской гимназии. В 1900 г. он окончил Новочеркасскую гимназию с золотой медалью и поступил на физико-математический факультет Киевского университета, с которым он был связан в течение более сорока лет. В то время в Киевском университете был ряд выдающихся ученых, ставших учителями и руководителями Н. Г. Холодного. Достаточно указать на С. Г. Навашина, М. А. Бунге, М. В. Цингера, К. А. Пуриевича и других. В 1907 г. Н. Г. Холодный окончил университет и был оставлен ассистентом при кафедре физиологии и анатомии растений. В 1908 г. он был командирован за границу и побывал в Берлине, Париже, Цюрихе, Страсбурге и Мюнхене. В 1908/09 учебном году в Киевском университете было впервые введено чтение курса микробиологии, и Николай Григорьевич активно участвовал в организации и проведении практических занятий по микробиологии. В течение двух лет Н. Г. Холодный готовился к сдаче магистерских экзаменов, которые сдал в 1912 г. В том же году ему было предложено взять на себя преподавание микробиологии в университете. В связи с этим он поехал в Петербург, где в отделе общей микробиологии Института экспериментальной медицины под руководством В. Л. Омелянского ознакомился подробно с методикой микробиологических исследований. В том же 1912 г. Николай Григорьевич начал читать приват-доцентский курс микробиологии, а в 1919 г. он защитил магистерскую диссертацию на тему «О влиянии металлических ионов на процессы раздражимости у растений». В 1925 г. Н. Г. Холодный был избран членом-корреспондентом, а в 1929 г. действительным членом Академии наук УССР. Как видный ученый Н. Г. Холодный был избран почетным членом Всесоюзного ботанического общества, действительным членом ряда советских и иностранных научных обществ и ассоциаций. С 1933 по 1941 г. он был заведующим кафедрой микробиологии Киевского государственного университета. В 1944 г. он был награжден орденом Ленина, и ему было присвоено звание заслуженного деятеля науки УССР.

Как ученый и человек Н. Г. Холодный был исключительно скромен, немного замкнут и очень прост в обращении. Он трижды выдвигался в качестве кандидата в действительные члены Академии наук СССР, но всякий раз снимал свою кандидатуру. Его пренебрежение к материальным благам и удобствам жизни было хорошо известно среди научных работников. Когда в 1919 г. был разрушен артиллерийским обстрелом дом, в котором была его квартира, он переехал в свою университетскую лабораторию и прожил в ней 13 лет. Образ его жизни был поистине спартанским. Н. Г. Холодный любил свою родину и во время Великой Отечественной войны он сдал в фонд обороны бывшие у него ценные вещи, в том числе большую золотую медаль, полученную его отцом в университете и хранившуюся в семье как реликвия. Этот патриотический поступок нашел широкий отклик и способствовал резкому увеличению сдачи ценностей в фонд обороны.

Научная деятельность Н. Г. Холодного была исключительно разносторонней. Им было опубликовано свыше 200 работ по физиологии растений, микробиологии, общей биологии, орнитологии и почвоведению. Рассмотрим кратко только его микробиологические исследования. Значительный интерес представляет открытие им в 1912 г. термофильных денитрифицирующих бактерий. Исследования были закончены, но в 1913 г. появилась статья чешского исследователя Ашброза на эту же тему, и Н. Г. Холодный решил не публиковать свои данные.

Широко известны работы Н. Г. Холодного по морфологии, систематике и экологии железобактерий. Исключительная наблюдательность Н. Г. Холодного позволила ему выяснить, что лентовидное образование у Gallionella представляет собой не нить железобактерий, как это считалось в течение ста лет, а отложение гидрата окиси железа, выделяемого почковидной клеткой железобактерий, сидящей на вершине нити. Решить эту загадку удалось с помощью простого методического приема: погружением в воду

покровных стекол, прикрепленных одним из углов к пробке. На стеклах поселялась Gallionella, и динамика ее развития была выяснена.

Исследования Николая Григорьевича по железобактериям внесли много нового в биологию этой группы организмов. Неудивительно, что автор учения о хемосинтезе С. Н. Виноградский дал следующую оценку этим работам: «Большим вкладом в наши знания о железобактериях явились исследования киевского профессора Н. Холодного. Морфология, физиология и экология этих микроорганизмов изложена в его замечательной монографии, дополненной критическим очерком, в котором автор рассматривает все недоразумения и пренебрежительные суждения, процветавшие в этой области в течение 30 лет».

В данное время монография о железобактериях Н. Г. Холодного издается в Издательстве АН СССР с добавлениями автора. При решении некоторых вопросов экологии и систематики железобактерий Николай Григорьевич исходил из приспособления микроорганизмов к условиям внешней среды и совершенно справедливо подчеркивал как в своих экспериментальных работах, так и в статьях, носивших полемический характер, что массовое развитие железобактерий в воде, содержащей ничтожное количество органических веществ, полностью гармонирует с автотрофностью железобактерий.

Совершенно новыми и оригинальными были исследования Н. Г. Холодного по усвоению микроорганизмами летучих органических веществ, содержащихся в воздухе. Им было доказано, что почвенные микроорганизмы способны развиваться за счет летучих веществ, выделяющихся из почвы богатой гумусом. С помощью простых и изящных опытов ему удалось установить, что нитрифицирующие бактерии могут размножаться при диффузии аммиака в окружающую их воду. Работы о «газовом» питании микробов были потом подтверждены и развиты. В частности, удалось доказать, что ряд витаминов переносится через воздух и микробы, нуждающиеся в этих витаминах, дают прекрасный рост на средах, которые обогащаются витаминами из воздуха. Исследования Н. Г. Холодного о «воздушном питании» микробов имеют исключительное значение. Они не только расширяют наши представления о физиологии питания микробов, но одновременно делают понятными те многочисленные сообщения в литературе о гетеротрофных микробах, развивающихся в лабораторных условиях на средах, не содержащих источника углерода или азота. Очевидно, что лабораторный воздух содержит ряд веществ, которые могут быть использованы как источник энергии и питания. Эти работы интересны и для гигиенистов, так как вполне реально усвоение человеком летучих веществ, в том числе и витаминов, выделяемых высшими растениями в окружающую их атмосферу.

Н. Г. Холодный был натуралистом с широким диапазоном интересов. Его, естественно, не могли удовлетворять существующие методы изучения почвенной микрофлоры. Он искал новые пути в микробиологии почвы и новые способы исследования микробов почвы. Отсюда предложенный им метод пластинок обрастания, получивший его имя. Уже вскоре после опубликования его работы по этому вопросу появился ряд сообщений, подтверждающих, что на предметных стеклах, зарытых в почву или погруженных в воду, поселяются и размножаются различные микроорганизмы. Экспериментатор получил возможность заглянуть в почву и увидеть не колонии микробов, растущих на чуждых им в экологическом отношении плотных питательных средах, а растущие гифы грибов, нити актиномицетов и клетки различных бактерий, питающихся веществами, содержащимися в почве. Теперь уже существует обширная литература, посвященная применению пластинок Холодного в водной и почвенной микробиологии. Появились различные модификации — предложение погружать стекла, на поверхности которых имеются различные питательные среды и т. п. Трудно переоценить значение этого метода — он приблизил нас к микробам, живущим в естественных субстратах.

Работая в этом же направлении, Н. Г. Холодный несколько позже предложил изучать микробов, растущих в камерах, содержащих спрессованную почву, однако этот метод не привлек такого внимания, как метод пластинок.

Перечисляя микробиологические исследования Н. Г. Холодного, нельзя не остановиться на его взглядах на происхождение жизни на Земле. Согласно его гипотезе первые живые существа (архебионты) возникли на поверхности илистого дна небольших высыхающих водоемов. Вода этих водоемов содержала больше органического вещества, чем вода океанов. Архебионты по своей структуре были значительно более простыми, чем ныне существующие одноклеточные организмы. Эти первичные живые существа питались готовыми органическими веществами. Обеднение атмосферы летучими веществами и конкуренция с фотобионтами привели к погружению архебионтов в грунт водоемов на большую глубину, и не исключена возможность, что они и теперь обитают там. Гипотеза Н. Г. Холодного о происхождении жизни особенно интересна теперь, когда вопросы образования живого вещества и проблема происхождения жизни привлекают особенное внимание.

Для всех микробиологических исследований Н. Г. Холодного характерно получение исключительно интересных результатов с помощью самых несложных методик. Простой прием — закапывание предметных стекол в почву — дал очень много для изучения почвенной микрофлоры. Это лишний раз говорит о том, что конечная оценка работы должна осуществляться на основании получаемых результатов, а не на основании применявшейся методики.

Советская биология потеряла крупного, талантливого ученого, блестящего экспери-

ментатора, удачно сочетавшего полевые наблюдения с исследованиями в лаборатории. Его вклад в учение о микроорганизмах был большим и ценным. Микробиологи навсегда сохранят светлую память о Николае Григорьевиче Холодном и как о крупном ученом, и как о человеке.

А. А. Имшенецкий

ПАМЯТИ С. Н. ВИНОГРАДСКОГО

24 февраля 1953 г. скончался выдающийся русский микробиолог С. Н. Виноградский, один из основоположников современной общей и почвенной микробиологии, вписавший ряд блестящих страниц в историю науки открытием хемосинтеза и созданием экологического направления в микробиологии.

С. Н. Виноградский родился в 1856 г. в городе Киеве, окончил Петербургский Университет, в 1881 г. После окончания он работал в Страсбурге, где выполнил свои известные работы по первым аноргоксидантам-железобактериям и серобактериям. В дальнейшем им были осуществлены блестящие исследования по нитрификации, привлекшие всеобщее внимание. И. И. Мечников передал С. Н. Виноградскому предложение Л. Пастера занять место заведующего отделом в Пастеровском институте в Париже. Однако С. Н. Виноградский отклонил это предложение и предпочел должность заведующего отделом общей микробиологии в Институте экспериментальной медицины в Петербурге. Эту должность он занимал с 1891 г. по 1912 г., передав затем заведывание своему знаменитому ученику В. Л. Омелянскому. Отдел общей микробиологии Института экспериментальной медицины сыграл важную роль в развитии нашей отечественной микробиологии. Там были выполнены исследования С. Н. Виноградского по азотфиксации и другим вопросам общей и почвенной микробиологии. С. Н. Виноградский дожил до 97 лет и этот возраст позволил ему на протяжении более чем 60 лет быть свидетелем успешного развития учения о хемосинтезе, метода элективных сред и других его открытий.

Нет надобности останавливаться подробно на работах С. Н. Виноградского, так как в 1952 г. вышла его «Микробиология почвы» на русском языке в Издательстве Академии наук СССР, содержащая большинство выполненных им исследований. Достаточно только перечислить наиболее крупные открытия и работы, сделанные им.

Открытие хемосинтеза у серобактерий, железобактерий и нитрифицирующих бактерий и экспериментальное доказательство у нитрификаторов усвоения углекислоты за счет энергии окисления аммиака.

Разработка основ экологического направления в почвенной микробиологии.

Разработка принципа элективных питательных сред.

Разработка методов прямого счета микробов в почве, изменивших наши представления о количестве микроорганизмов, обитающих в одном грамме почвы.

Детальное изучение биологии и особенно физиологии питания и энергии азотобактера.

Открытие анаэробной азотфиксирующей бактерии Clostridium Pasteurianum.

Открытие (совместно с Фрибесом) возбудителя мочки льна.

Описание ряда неизвестных ранее аэробных целлюлозных бактерий.

Это только краткий перечень. Очень многое, не менее ценное, сюда не вошло, но и этот перечень говорит о большой широте интересов и исключительной одаренности С. Н. Виноградского.

Оценивая научное наследство С. Н. Виноградского, прежде всего следует подчеркнуть его роль в развитии того направления микробиологии, в котором гармонично сочетались морфологические и физиологические методы исследований. Трудно указать, что доминировало, например, в его многочисленных работах по азотфиксации: детальное описание морфологии микробов или химические анализы. В дальнейшем, после первых работ С. Н. Виноградского, в микробиологии наметилось обособление морфологических и физиологических школ. Только теперь можно оценить прозорливость С. Н. Виноградского, так как невозможность раздельного изучения функции и формы у микроорганизмов стала для нас очевидной. Обмен веществ микробов, лежащий в основе морфологических изменений, стал привлекать все большее и большее внимание.

Широта теоретического кругозора С. Н. Виноградского позволила ему в конце прошлого столетия предугадать многогранность метаболизма микробов и предсказать, что только исходя из единства микроорганизма с условиями его жизни, можно составить правильное представление об особенностях его физиологической деятельности. Придавая исключительное значение внешней среде, С. Н. Виноградский не только встал на правильные методологические позиции, но и экспериментально показал, что микроб, перенесенный в необычную для его жизни обстановку, коренным образом меняет свой обмен веществ («сахарный» азотобактер и т. д.).

Не менее созвучна с нашей эпохой идея о необходимости развития экологического направления в микробиологии, так как только познав физиологию приспособительных взаимоотношений микроба и среды, можно приблизиться к управлению наиболее мощными агентами превращения веществ в природе — микроорганизмами.

Творчество ученого необходимо оценивать, исходя из его роли в развитии науки в определенную эпоху. Идеи С. Н. Виноградского о разнообразии физиологии микроорганизмов были в свое время исключительно прогрессивными. Они опровергали «клас-

сические» догмы немецкой школы, представители которой шли по стопам Р. Коха и пытались вырастить «всех микробов на одной питательной среде».

В своих работах Виноградский предложил методы, позволяющие выявить характер физиологической деятельности микробов в естественных природных условиях, что было неосуществимо с помощью обычного метода чистых культур. Но Виноградский не отрицал значения чистых культур при условиях, отвечающих потребностям микробов, и сам постоянно ими пользовался.

Однако при всем значении научного наследства С. Н. Виноградского нельзя не отметить, что некоторые его положения не могут быть теперь приняты безоговорочно. Его точка зрения на изменчивость бактерий носила несколько мономорфистский характер. Возможность сложных циклов развития, а также процессы видообразования им недооценивались. Отдельные его сообщения (например, обилие описанных им видов нитрификаторов) не были подтверждены в дальнейшем. Следует признать, что Виноградский проводил излишне резкую границу между сапрофитными и хемосинтезирующими бактериями. Нитрификаторы и другие автотрофы оказались более терпимыми к органическому веществу, чем это думал Виноградский. С другой стороны, некоторые из сапрофитных почвенных бактерий способны образовывать небольшие количества нитратов из аммиачных солей, хотя этот процесс, вероятно, и не имеет для них энергетического значения. Однако все это ни в коей мере не «колеблет» учения о хемосинтезе и говорит только о развитии науки, о накоплении новых данных, уточняющих наши старые представления. Жизнь движется вперед, вносятся коррективы даже в наиболее «установившиеся» понятия, создаются новые теории — в этом поступательное движение науки.

Все знавшие С. Н. Виноградского характеризуют его, как человека и исследователя следующим образом: немного суровый, несколько замкнутый, работавший самостоятельно и не любивший руководить учениками. Можно оспаривать современность такого стиля работы, однако заслуживает глубокого уважения то, что С. Н. Виноградский принадлежал к числу исследователей, которые всю свою жизнь непосредственно участвуют сами в экспериментальной работе. С. Н. Виноградский в своей работе был подлинным экспериментатором, самостоятельно выполняя так называемую техническую работу.

Мастер эксперимента в молодости С. Н. Виноградский сохранил и до старости искусство «зажимать природу в тиски» (по выражению Тимирязева) и получать от нее ответы о скрытых ею тайнах. И таких «тайн природы» С. Н. Виноградский открыл настолько много, что трудно было бы переоценить значение его научного наследства. Мы прекрасно знаем, что самые одаренные натуры не реализуют своих возможностей, если к своему таланту они не приложат большой, упорный созидательный труд.

Смерть С. Н. Виноградского большая потеря для микробиологии. С его именем был связан большой этап в развитии науки о жизни микробов. За 60 лет им было дано сравнительно мало чисто теоретических статей, обобщений или обзоров, но зато им было сделано большое число наблюдений и открытий, сыгравших выдающуюся роль в истории нашей науки. Будучи в настоящее время свидетелями больших достижений в области микробиологии, мы должны с благодарностью вспоминать имя С. Н. Виноградского, так как эти успехи в значительной степени связаны с вкладом, который он внес в науку.

А. А. Имшенецкий

ОПЕЧАТКИ

В статье С. А. Бариновой «Влияние углекислоты на рост плесневых грибов», опубликованной в № 4 за 1953 г. на стр. 392 строка 19 сверху читать:

Состав среды (Буткевича): NH_4NO_3 — 0,3%, KH_2PO_4 — 0,066%, $MgSO_47H_2O$ — 0,033%, $FeCl_36H_2O$ — 0,003%, $ZnSO_47H_2O$ — 0,004%, $MnSO_47H_2O$ — 0,003%. Сахарозы или глюкозы 0,75—5%.

В статье Н. Б. Нечаевой «Образование метана микроорганизма», опубликованной в № 4 за 1953 г.

на стр. 463 строка 3 снизу и на стр. 465 строка 6 снизу напечатано C^{14} надо читать C^{11}.

СОДЕРЖАНИЕ

Экспериментальные статьи

С. А. Баринова. К вопросу о значении углекислоты для жизнедеятельности плесневых грибов 1. О возможности замены углекислоты органическими кислотами 497

И. Л. Работнова и Р. М. Глаголева. Обогащение субстрата азотистыми веществами при развитии Azotobacter agile и Azotobacter chroococcum . . 506

М. С. Лойцянская. Изменчивость уксуснокислых бактерий 511

В. И. Успенская. Изучение физиологии питания Os. splendida Grew. и Os. agardhii Gom. в связи с образованием и накоплением запахов и привкусов воды. 1. Опыты на искусственных питательных растворах 517

Э. М. Диканская. Люминесцентно-микроскопические наблюдения над образованием и выделением рибофлавина микроскопическим грибом Eremothecium ashbyii 525

А. К. Родопуло. О реакции карбоксилирования пировиноградной кислоты дрожжами 530

М. А. Купрейчик. О фильтрующихся формах желтой сарцины 535

В. В. Абрамович. О способах дифференцированной окраски спорулирующей культуры винных дрожжей 539

Р. В. Феникcова и Р. Б. Сегаль. Плесневые грибы из рода Aspergillus, как продуценты амилазы. III. Влияние условий выращивания на конидиеобразование гриба Aspergillus oryzae 543

Е. К. Кардо-Сысоева и В. А. Утенкова-Ранцан. О выходе спирта при дрожжевом брожении. 1. Учет фактического выхода спирта при сбраживании древесных гидролизатов 551

С. А. Коновалов. Эффективный антисептик против кислотообразующих бактерий 559

Л. И. Комарова. Влияние четвертичных аммонийных соединений на дрожжи при различных условиях 566

В. А. Смирнова. Элементарные тельца при мозаичной болезни лука 572

Н. И. Петрушова. Исследование антагонистических свойств актиномицетов по отношению к фитопатогенным грибам 577

Дискуссия

Х. Ж. Жуматов. К вопросу о фильтрующихся формах микроорганизмов и их взаимосвязи с вирусом 580

Обзоры

М. В. Федоров. Промежуточные переносчики водорода и их значение в процессах дыхания 586

История отечественной науки

М. В. Горленко. А. А. Ячевский как миколог и фитопатолог (1863—1932) (К 20-летию со дня смерти) 602

Рефераты

Общая микробиология, физиология, морфология и биохимия 611

Критика и библиография

К. И. Рудаков.— М. В. Федоров. Биологическая фиксация азота 619

Библиография 621

Хроника

Постановление Президиума Академии наук Союза ССР 629

Е. Л. Рубан. Конференция по проблеме «неклеточные формы жизни» . . . 631

Н. М. Шемаханова. Совещание по микотрофному питанию древесных пород 633

О. М. Пушкинская. Конференция по планированию работ в области почвенной микробиологии в системе учреждений АН СССР и академий союзных республик 635

А. А. Имшенецкий. Н. Г. Холодный 637

А. А. Имшенецкий. Памяти С. Н. Виноградского 639

Т-04894 Подписано к печати 12/IX 1953 г. Печ. л. 12,33+1 вклейка

Уч.-изд. л. 15,4 Формат бум. 70×108 1/16. Бум. л. 4 1/2 Тираж 5825 экз. Зак. 1563

2-я типография Издательства Академии наук СССР. Москва, Шубинский пер., д. 10

Цена 12 руб.

ОТКРЫТА ПОДПИСКА
НА ЖУРНАЛЫ АКАДЕМИИ НАУК СССР
на 1954 год

Название журналов	Количество номеров в год	Подписная цена в руб.
Астрономический журнал	6	54
Биохимия	6	72
Ботанический журнал	6	90
Вестник Академии наук СССР	12	96
Вестник древней истории	4	96
Вопросы языкознания	6	72
Доклады Академии наук СССР (без переплета)	36	360
Доклады Академии наук СССР (с 6 папками, коленкоровыми с тиснением)	36	384
Журнал аналитической химии	6	36
Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова	6	90
Журнал общей биологии	6	45
Журнал общей химии	12	180
Журнал прикладной химии	12	126
Журнал физической химии	12	216
Записки Всесоюзного минералогического общества	4	30
Зоологический журнал	6	135
Известия Академии наук, Отделение литературы и языка	6	54
Известия АН СССР, Отделение химических наук	6	96
Известия АН СССР, Отделение технических наук	12	180
Известия АН СССР, серия биологическая	6	72
Известия АН СССР, серия географическая	6	54
Известия АН СССР, серия геологическая	6	90
Известия АН СССР, серия геофизическая	6	54
Известия АН СССР, серия математическая	6	54
Известия АН СССР, серия физическая	6	72
Известия Всесоюзного географического общества	6	54
Коллоидный журнал	6	45
Математический сборник	6	108
Микробиология	6	72
Почвоведение	12	108
Прикладная математика и механика	6	72
Природа	12	84
Советское государство и право	8	120
Советская этнография	4	72
Успехи современной биологии	6	48
Успехи химии	8	64
Физиологический журнал им. И. М. Сеченова	6	72
РЕФЕРАТИВНЫЙ ЖУРНАЛ		
Астрономия	12	91.20
Математика	12	91.20
Механика	12	91.20
Физика	12	240
Химия	24	360

ПОДПИСКА ПРИНИМАЕТСЯ

ГОРОДСКИМИ И РАЙОННЫМИ ОТДЕЛАМИ «СОЮЗПЕЧАТИ», ОТДЕЛЕНИЯМИ И АГЕНТСТВАМИ СВЯЗИ, МАГАЗИНАМИ «АКАДЕМКНИГА», А ТАКЖЕ КОНТОРОЙ «АКАДЕМКНИГА» ПО АДРЕСУ: МОСКВА, ПУШКИНСКАЯ УЛ., ДОМ 23.